

Aus der Kinderklinik der Städtischen Krankenanstalten
in Braunschweig
Direktor: Prof. Dr. J. Oehme

DIE ENTWICKLUNG DER ZELLULÄREN IMMUNITÄT
IM LAUFE DES KINDESALTERS UNTER BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG DER THYMUSABHÄNGIGEN
T-LYMPHOZYTEN

ZUGLEICH EIN KRITISCHER BEITRAG ZUM SOG.
E-ROSETTENTEST

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von —

ORTRUD LANGE
—
aus Bonn

Marburg 1977
—

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Kinderklinik der Städtischen Krankenanstalten
in Braunschweig
Direktor: Prof. Dr. J. Oehme

DIE ENTWICKLUNG DER ZELLULÄREN IMMUNITÄT
IM LAUFE DES KINDESALTES UNTER BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG DER THYMUSABHÄNGIGEN
T-LYMPHOZYTEN

ZUGLEICH EIN KRITISCHER BEITRAG ZUM SOG.
E-ROSETTENTEST

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

ORTRUD LANGE
aus Bonn

Marburg 1977

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 28.1.1977

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan:	Prof.Dr.F. Neurath
Referent:	Prof.Dr.J. Oehme
Correferent:	Prof.Dr.C. Eschenbach

I n h a l t s a n g a b e

Seite

A: E I N L E I T U N G

Die Lymphozytenpopulationen, ihre Stellung im Gesamtkomplex der Immunabwehr; fetale Entwicklung der zellulären Immunität; Nachweismethoden für T-Lymphozyten; Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	1
---	---

B: H A U P T T E I L

I. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

<u>1. Patientengut</u>	14
<u>2. Methode</u>	19
<u>3. Ergebnisse</u>	27
a) Gesamt-Leukozytenzahlen/mm ³	27
b) Prozentualer Anteil der Lympho- zyten im peripheren Blutbild	28
c) Absolute Lymphozytenzahlen/mm ³	30
d) Absolute Zahlen rosettenbildender Lymphozyten/mm ³	33
e) Ergebnisse aus 10 Längsschnitt- untersuchungen im 1.Trimenon	35

II. DISKUSSION

<u>1. Diskussion der Methodik</u>	37
a) Diskussion der Auswahl der Versuchspersonen	37
b) Diskussion der Gruppeneinteilung	38
c) Diskussion der E-Rosettenmethode	40
d) Brauchbarkeit des E-Rosettentests für die Klinik	65
 <u>2. Diskussion der Ergebnisse</u>	 68
1) Diskussion der Veränderungen im weißen Blutbild im Laufe des Kindesalters	68
2) Diskussion der Ergebnisse über rosettenbildende Zellen	71
3) Diskussion der Ergebnisse bei reifen Neugeborenen, Frühgeborenen und Mangelgeborenen	77
4) Der derzeitige Stand der Kenntnisse über die Immunkompetenz im frühen Säuglingsalter	84
 <u>C: Z U S A M M E N F A S S U N G</u>	 92
 D: Anhang: Tabellen und Abbildungen	 99
Abkürzungsverzeichnis	
Literaturnachweis	

A: E I N L E I T U N G

Vor circa 100 Jahren wurden die Lymphozyten von Paul Ehrlich beschrieben. Über ihre Funktion war lange Zeit nichts bekannt; sie standen ganz im Schatten der Granulozyten, denen allein die Aufgabe der Infektabwehr zugeschrieben wurde.

Phylo- und ontogenetische Studien sowie angeborene Defekte des Immunsystems haben die Stellung der Lymphozyten aufgezeigt, und erst im letzten Jahrzehnt wandte sich das Interesse dem lymphatischen System zu, woraus zahlreiche neue Erkenntnisse über das Zusammenspiel unspezifischer und spezifischer Faktoren bei der Immunabwehr sowie über Immunmangelkrankheiten, Autoimmunerkrankungen und maligne Prozesse resultierten.

Dabei gilt das besondere Interesse heute denjenigen Untersuchungsmethoden, mit deren Hilfe die zwei Lymphozytenpopulationen in vitro identifiziert werden können: a) die durch den Thymus geprägten sogenannten T-Zellen[111] und b) die von einem der Bursa Fabricii



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552327_0071

Die Lymphozyten nehmen in dem Gesamtkomplex der Immunabwehr, der hier nur kurz umrissen werden soll, eine zentrale Stellung ein. Aus der Erforschung ihrer Morphologie und Eigenschaften erwartet man daher auch neben neuen Erkenntnissen über die Immunmangel-, Autoimmun-, lymphoproliferativen und malignen Erkrankungen Aufschlüsse über die Bedeutung der physiologischen Lymphozytose im peripheren Blutbild beim Säugling und Kleinkind.

Die Immunantwort (spezifisch und unspezifisch) läuft - kurz summiert - wie folgt ab (s. Abb. 1) :

Ein in den Organismus gelangtes Antigen wird von Zellen des Retikulo-Histiozytären Systems, den Makrophagen, in ein Informationsantigen (Superantigen) umgewandelt, gegen das die T-Zelle, auf die es trifft, einen antigenspezifischen Antikörper bildet, der an die Membran der Zelle gebunden bleibt und durch Teilung der Zelle weiterverbreitet wird [71, 77]. Bei der Zellteilung vorausgehenden Transformation werden Mediatorstoffe frei, sog. Lymphokinine (z.B. MIF und MAF^x, Interferon, Transferfaktor, mitogener Faktor, chemotak-

^x MIF = Makrophageninhibitionsfaktor (hindert die Makrophagen am Verlassen des Entzündungsherd)

MAF = Makrophagenaktivierungsfaktor (bewirkt die Reifung der Monozyten zu Makrophagen)

tische Faktoren, Lymphotoxin, hautreaktiver Faktor), die eine Beteiligung anderer Zellen wie Granulozyten, Makrophagen und B-Lymphozyten an der Immunreaktion auslösen[38,71,73,77,79,86,107,110,119]. Außerdem können u.U. Entzündungsstoffe aus den Mastzellen freigesetzt werden[79], die dann zu entzündlichen Reaktionen vom Spättyp führen, z.B. der Tuberkulinreaktion.

Die zunächst Antigen-spezifische Immunreaktion zwischen Antigen und T-Zelle bewirkt, daß im nächsten Schritt der Immunantwort unspezifische Abwehrfaktoren in die Lage versetzt werden, die Eliminierung bzw. Neutralisation des Antigen durchzuführen[79]; ganz besonders trifft das zu für die Abwehr intrazellulär-vitaler Erreger, mit denen die Phagozyten ohne Hilfe der T-Zellen nicht fertig werden und die gegen die humorale Abwehr resistent sind, da sie sich unerreichbar im Inneren der Makrophagen befinden[77,79,139]. Man spricht daher auch von Induktoren (T-Lymphozyten) und Exekutoren (Phagozyten : Neutrophile, Makrophagen, Mastzellen) der zellulären Abwehr[37]. Das Bindeglied zwischen zellulärer und humoraler Immunantwort, sozusagen der Manager, ist das Komplement-System[84], das die Interaktion zwischen T- und B-Zellen sowie Granulozyten organisiert.

Weder das unspezifische System der Infektabwehr (Phagozyten, Komplement) noch das spezifische (T- und B-Lymphozyten, Immunglobuline) können allein für sich

das Antigen beseitigen bzw. neutralisieren. Nur in Ausnahmefällen erkennt die B-Zelle das Antigen ohne Hilfe des T-Lymphozyten bei den "T-independent" Antigenen mit Polysaccharidstruktur (z.B. Pneumokokken, E.coli) [72,139] : in den meisten Fällen, insbesondere bei Antigenen mit Proteinstruktur [77,95], ist sie auf die Kooperation der T-Zelle angewiesen (die in dieser Funktion auch helper-cell genannt wird [112,139]), ehe sie sich in die immunkompetente, das Antigen-spezifische Immunglobulin sezernierende Plasmazelle umwandeln kann [119]. Antwortet auf ein Antigen nur eine einzige Zelllinie, so spricht man von monoklonaler Immunantwort, sind mehrere Linien mit der Antikörperproduktion befaßt, so handelt es sich um eine polyklonale Reaktion.

Die T-Lymphozyten stellen das immunologische Gedächtnis dar, indem sie durch ihre Zellteilungen nach Antigenkontakt die Matrize des betreffenden Antigen an ihre Tochterzellen weiterreichen. Bei erneutem Kontakt mit diesem Antigen kommt diesen langlebigen, oft jahrelang zirkulierenden memory-cells die Aufgabe zu, das Antigen als "bekannt" zu registrieren, die Information prompt weiterzureichen und auf diese Weise für eine sofortige Bereitstellung des spezifischen "passenden" Antikörpers zu sorgen [38,77,119]. Die memory-cells entstehen nach jedem Antigenkontakt neben den sog. spezifisch reagiblen, mit der akuten Antigenabwehr befaßten T-Lymphozyten, den effector-cells [119]. Inzwischen ist bekannt, daß es auch

aktion unmöglich machen und die immunologische Tumorbegrenzung und -beseitigung versagen lassen[99,186].

Die Entstehung von Autoimmunerkrankungen erklärt man sich zur Zeit so, daß denaturierte körpereigene Gewebe als fremd, d.h. als Antigen empfunden werden oder daß die sog. Immuntoleranz gegen körpereigenes Gewebe durchbrochen wird[56]. Die Folge ist, daß T-Lymphozyten dieses betreffende Gewebe angreifen.

Zweifellos kommt der zellulären Immunüberwachung und -Abwehr, bestehend aus den Phagozyten und den T-Zellen, eine hervorragende Bedeutung zu.
[Übersichtsarbeiten: 2,37,38,44,56,71,76,79,85,86,90,94,95,107,112,113,118,119,120,121,123,134,138,146,147,158].

Aus diesen Erkenntnissen der immunologischen Grundlagenforschung lassen sich zahlreiche angeborene und erworbene Immundefekte ableiten und z.T. bereits heute gezielt behandeln[44,120,121,123,125,138,145,158].

Über die Entwicklung der zellulären Immunität vor und nach der Geburt sind die Kenntnisse noch unvollständig, obwohl gerade diesem Fragenkomplex in den letzten Jahren das besondere Interesse galt. Abb.2 zeigt, daß aus den Blutbildungsstätten (Dottersack, Leber, Milz und schließlich Knochenmark) ab der 3. bis 8. Gestations-

woche pluripotente Stammzellen der Hämatopoese entstehen[29,159], aus denen unter anderem auch die Vorstufen der Lymphozyten und der Phagozyten hervorgehen [71]. Die Lymphozyten gelangen in zwei bereits in den frühesten Schwangerschaftswochen angelegte lymphoepitheliale Strukturen, die sog."Lymphoid-Organe(1.Thymus und 2.ein der Bursa Fabricii bei Vögeln analoges, beim Menschen noch hypothetisches Gewebe, ,wahrscheinlich das Knochenmark[1], u.U. aber auch Tonsillen, Peyer' Plaques, Appendix vermicularis[38,77,79,117,139]) und erfahren in diesen ihre Prägung zu T- oder B-Zellen[38, 71]. Es gibt Anhaltspunkte dafür, daß die Determination der T-Lymphozyten auch fern vom Thymus erfolgen kann durch einen Serumfaktor, z.B.ein Thymushormon, der nur beim Kind und Adoleszenten, jedoch nicht mehr beim Erwachsenen nachweisbar ist[13].

Im Thymus sind T-Zellen erstmals in der 8.-12.Gestationswoche nachweisbar[8,83,176]. Die Milz weist bis zur 18.-22.Woche keine T-Lymphozyten auf[83].

Der früheste B-Zell-Nachweis gelingt ab der 10.-12. Woche in Leber und Milz[83]. Immunglobuline von den zu Plasmazellen gereiften B-Lymphozyten sind, wenn auch nur in geringen Mengen, ab der 20.Schwangerschaftswoche nachweisbar[61,167].

Es ist noch unbekannt, ob die frühen Thymozyten bereits immunkompetent sind, d.h.Mediatorstoffe sezernieren können[8]. Ihr Nachweis mit Hilfe des Rosetten-

testes gelingt; sie haben sogar eine noch größere Adhärenz an verschiedene auto- und heterologe Zelltypen als die reifen T-Zellen[64]. Etwa ab der 12.-15. Gestationswoche sind die fetalen Lymphozyten durch Phythämagglutinin(PHA) stimulierbar[134,176].

Im peripheren Blutstrom treten beide Lymphozytenpopulationen fast gleichzeitig in Erscheinung: T-Zellen ab der 11.[176] und B-Zellen ab der 12.Schwangerschaftswoche[83]. Evans et al.[52] vermuten, daß die Proliferation der T-Lymphozyten des Feten durch maternale Faktoren reguliert wird.

Es ist allgemein bekannt, daß Neugeborene und in noch höherem Maße Früh- und Mangelgeborene besonders anfällig sind für schwere Allgemeininfektionen, da es sich offenbar auch bei der Immunabwehr um eine sog. "werdende"Funktion[142] handelt.

Der unspezifische Teil der zellulären Abwehr, die Phagozytose, ist phylo- und ontogenetisch älter als das lymphozytäre, spezifische System[29]; über seine pränatale Entwicklung sind uns keine Untersuchungen bekannt. Beim Neugeborenen scheinen nach den bisher vorliegenden Erkenntnissen einige Funktionen des RHS (polymorphkernige Leukozyten, Makrophagen) und des RES (fixe phagozytierende Zellen in den Sinusoiden von Milz und Leber sowie die Monozyten) noch nicht voll entwickelt zu sein[44,71,113,182]; lediglich Park[130]

berichtete über eine normale Funktionstüchtigkeit der unspezifischen Abwehrmechanismen beim Neugeborenen.

Im Bereich der spezifischen, also lymphozytären Infektabwehr sind die prä- und postnatale Entwicklung der humoralen Mechanismen (B-Zellen und Immunglobuline) weitgehend geklärt [23, 57, 59, 71, 101, 168]. Nun wendet sich das Interesse den T-Lymphozyten zu, denen gerade in der Neonatalperiode und frühen Säuglingszeit in der Immunabwehr besondere Bedeutung zukommt, da der Fetus und das Neugeborene zwar diaplazentar von der Mutter mit IgG ausgestattet werden und in beschränktem Ausmaß in der Lage sind, selbst Immunglobuline zu bilden (IgA, IgG, IgM und IgE) - auf der anderen Seite aber besonders anfällig bleiben für Keime, bei deren Abwehr die zelluläre Immunreaktion eine hervorragende Rolle spielt wie z.B. Pilze, Viren (Herpes-Gruppe, Röteln, Zytomegalie), Protozoen (Toxoplasmen, Pneumozystis carinii) und intrazellulär-vitale Bakterien (Listerien, Mykobakterien) [71, 77, 79, 95, 138, 182].

Die T- und B-Lymphozyten können heute mit Hilfe zahlreicher Verfahren differenziert und voneinander getrennt werden [Übersichtsarbeiten: 2, 5, 30, 31, 37, 51, 72, 82, 89, 91, 94, 95, 119, 132, 135, 148, 156, 164, 169, 180].

T-Zellen werden auf drei Wegen nachgewiesen[164]:

1. serologisch (Zytotoxizitäts-Tests, Immunfluoreszenz-mikroskopie, Radioimmunoassay)
2. Rosettentest und Rosetteninhibitionstest
3. morphologisch (Transmissions- und Rasterelektronen-mikroskopie).

Als erste beschrieben 1964 Z a a l b e r g [185] und 1966 B i o z z i et al.[21] das Phänomen, daß Lymphozyten verschiedener Spezies mit heterologen Erythrozyten Rosetten bilden. B a c h et al.[12] inaugurierten 1969 den sog. Rosettentest, der seitdem zahlreiche Abwandlungen und weite Verbreitung in der immunologischen Forschung erfahren hat. Auch wir wenden diesen Test an, der, sofern er unter stets konstanten Bedingungen durchgeführt wird, gut reproduzierbare Ergebnisse liefert[18].

Ziel dieser Arbeit soll sein, einen Beitrag zu liefern zur Klärung folgender Fragen:

1. Die Methodik des Rosettentests variiert von Institut zu Institut, sodaß die Ergebnisse der verschiedenen Untersucher kaum zu vergleichen sind. Solange es keine standardisierte Rosettenmethode gibt, wie sie von der IUIS[2] gefordert wurde, muß jeder, der mit diesem Test arbeitet,

zuvor die für seine Methodik geltenden Normalwerte selbst ermitteln.

Zu diesem Zweck führten wir den Rosettentest an 263 Kindern im Alter vom 2. Lebenstag bis zum 15. Lebensjahr durch, um für die von uns verwendete Methode die Normalwerte für die verschiedenen Altersgruppen festzustellen und in späteren Untersuchungen an kranken Kindern deren Ergebnisse mit Normalwerten vergleichen zu können.

2. Bekanntlich findet im Laufe des Kindesalters zweimal eine Umkehr der Granulozyten-Lymphozyten-Relation im peripheren Blutbild statt, die sog. 1. und 2. Lymphozytenkreuzung [29, 43, 93, 166].

Unsere Fragestellung ging dahin, ob sich zu den Zeitpunkten dieser Lymphozytenkreuzungen auch der prozentuale Anteil der T-Zellen an der Gesamtheit der Lymphozyten ändert.

3. Bislang gab es kaum Untersuchungen über den Pool zirkulierender Lymphozyten in den verschiedenen Alters- und Reifestufen des Kindes; die wenigen vorliegenden Untersuchungen geben zudem vorwiegend ausschließlich die Prozentzahlen der T-Zellen an [27, 54, 155, 176, 181] und nicht ihre absoluten Zahlen pro mm^3 Vollblut [7, 57, 95, 106], wie es die WHO in Verbindung mit der International Agency

for Research on Cancer[80] und der IUIS[2] zum Zwecke der Standardisierung forderten.

Infolge der oben erwähnten Änderungen der Granulozyten-Lymphozyten-Relation im Laufe des Kindesalters und der physiologischen Leukozytose des Säuglings[30,43,93,166] ist eine alleinige Angabe der Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten wenig aufschlußreich zur Beurteilung des T-Zell-Pools im peripheren Blut.

Aus diesem Grund bestimmten wir zusätzlich die absoluten Zahlen zirkulierender T-Lymphozyten pro mm^3 Vollblut in den verschiedenen Alters- und Reifestufen.

4. Beruht die Infektanfälligkeit Neugeborener und in noch höherem Maße Früh- und Mangelgeborener gegenüber Erregern, die für andere Altersgruppen gar nicht oder in nur geringem Maße pathogen sind, möglicherweise auf einer Insuffizienz der spezifischen zellulären Immunabwehr infolge eines Defizits an zirkulierenden T-Lymphozyten?

B: H A U P T T E I L

I. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Patientengut

Wir führten den E-Rosettentest an insgesamt 263 Früh-, Mangel- und Neugeborenen, Säuglingen und Kindern bis zum Alter von 14 Jahren in einem Zeitraum von acht Monaten (Januar - August 1975) durch.

Zu den Untersuchungen wurden ausschließlich gesunde Kinder ausgewählt oder solche, die nicht an Krankheiten litten, die einen Einfluß auf die Lymphozyten erwiesenermaßen haben oder erwarten ließen.

In der Hauptsache handelte es sich um Früh- und Mangelgeborene, die sich zur Aufzucht in unserer Klinik befanden, ferner um reife Neugeborene und Säuglinge mit Adaptationsstörungen oder Fehlbildungen (Herz-, Kiefer-, orthopädische Mißbildungen) oder mit geburtstraumatischen Lähmungen und um sog. "Risiko-kinder" zur Beobachtung; ausgeschlossen wurden solche

mit perinatalen Infektionen, Morbus hämolyticus neonatorum und Chromosomopathien. Bei den älteren Kindern handelte es sich wiederum um solche, die zum Zwecke der Korrektur vorhandener Fehlbildungen, zur Abklärung von Anfallsleiden, Herzfehlern oder Adipositas bzw. zur Neueinstellung eines Diabetes mellitus stationär aufgenommen waren sowie um Kinder mit Verhaltensstörungen. Ausgeschlossen wurden Kinder mit Immundefekten oder daraufhin verdächtigen Anamnesen, Kinder mit frischen oder kurz zuvor überstandenen Infekten, mit Malignomen, Leukosen oder Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis und schließlich auch diejenigen, deren Medikation einen Einfluß auf die Lymphozyten vermuten ließ (Corticoide und andere Immunsuppressiva).

Da es uns interessierte, ob zu den Zeitpunkten der sog. "Lymphozytenkreuzungen" (vergl. Abb. 3) eine Änderung der T/B-Relation zu beobachten ist, nahmen wir ausgehend von der 1. und 2. Lymphozytenkreuzung (s. S. 39) eine Unterteilung in zwei Hauptgruppen vor: in der ersten wurden die Ergebnisse der Kinder vor und nach der 1. Kreuzung, in der zweiten diejenigen vor und nach der 2. Kreuzung miteinander verglichen, wobei im Einzelnen folgende Gruppen gebildet wurden:

- 1) Neu-, Früh- und Mangelgeborene bis incl. 6.Lebenstag
- 2) Neu-, Früh- und Mangelgeborene vom 7.Lebenstag bis zum Ende des 1.Trimenon
- 3) Säuglinge und Kleinkinder ab dem 2.Trimenon bis incl.6.Lebensjahr
- 4) Kinder vom 7.bis 15.Lebensjahr

Die Gruppen 1 und 2 wurden nochmals unterteilt in:

- a) reife Neugeborene ($> 36.$ SSW, Geburtsgewicht > 2500 g)
- b) Frühgeborene ($< 36.$ SSW, Geburtsgewicht < 2500 g)
- c) Mangelgeborene ($> 36.$ SSW, Geburtsgewicht < 2500 g)

Die Bestimmung des Gestationsalters erfolgte nach dem Petrusa-Score[131] und der Höhe des Alpha₁-Fetoprotein im Serum[75,115].

Die Tab.I zeigt die zahlenmäßige Zusammensetzung der Gruppen: es wurden 263 Kinder untersucht, davon 159 um die 1.Lymphozytenkreuzung sowie 104 um die zweite.

Von den insgesamt 74 Neugeborenen waren 22 (=29,7 %) jünger als 7 Tage, bei den 41 Früh- und 44 Mangelgeborenen waren es je 14 (= 34,1 bzw.31,8 %). Älter als 7 Tage waren unter den 74 Neugeborenen 52 (=70,3 %), unter den 41 Früh- und 44 Mangelgeborenen waren es 27 (=65,9 %) bzw.30 (=62,2 %). Eine ursprünglich vorgesehene weitergehende Unterteilung dieser Gruppen nach

dem Geschlecht wurde wieder fallengelassen: einerseits wegen der geringen Anzahl, zum anderen aber auch, nachdem Überschlagsberechnungen keine statistisch signifikanten Unterschiede erkennen ließen. Unter den insgesamt 159 im 1. Trimenon untersuchten Säuglingen befanden sich 75 Knaben und 84 Mädchen.

Das Durchschnittsalter am Untersuchungstag zeigt folgende Aufstellung:

Gruppe 1 : reife Neugeborene	4 Tage (2 - 6 Tage)
Frühgeborene	4 " (3 - 6 ")
Mangelgeborene	4 " (2 - 6 ")
Zusammen	4 Tage (2 - 6 Tage)
Gruppe 2 : ehem. reife Neugeborene	14 Tage (7 - 90 Tage)
ehem. Frühgeborene	23 " (7 - 75 ")
ehem. Mangelgeborene	21 " (8 - 60 ")
Zusammen	18 Tage (7 - 90 Tage)

Bei den im 1. Trimenon untersuchten Säuglingen (Gruppe 1 und 2 zusammen) wogen am Untersuchungstag im Durchschnitt die reifen Neugeborenen 3290 g, die Frühgeborenen 2340 g und die Mangelgeborenen 2380 g, alle zusammen im Mittel 2750 g.

Gruppe 1 : reife Neugeborene	3235 g
Frühgeborene	2050 g
Mangelgeborene	2270 g
Zusammen	2590 g

Gruppe 2 : ehem.reife Neugeborene	3340 g
ehem.Frühgeborene	2560 g
ehem.Mangelgeborene	2610 g
Zusammen	2900 g

Unter den jenseits des 1.Trimenon untersuchten Säuglingen und Kindern(Gruppe 3 und 4) befanden sich 53 Jungen und 51 Mädchen.

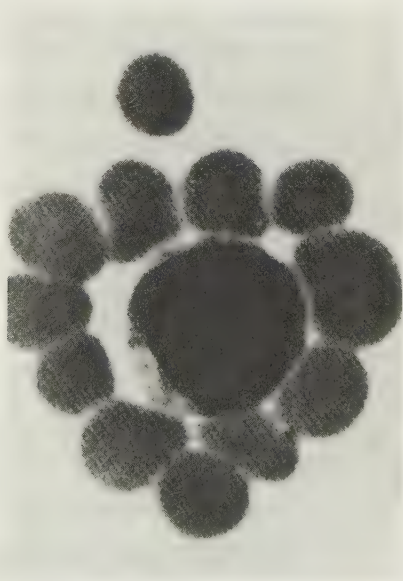
Bei den Jungen waren 19 (=35,8 %) jünger und 34 (=64,2 %) älter als 6 Jahre, bei den Mädchen waren es entsprechend 27 (=52,9 %) bzw.24 (=47,1 %).

Das Durchschnittsalter am Untersuchungstag gibt die folgende Aufstellung wieder:

Gruppe 3 :	Jungen	4 $\frac{6}{12}$ Jahre	(0 $\frac{6}{12}$ - 6 $\frac{11}{12}$ Jahre)
	Mädchen	4 $\frac{2}{12}$ "	(0 $\frac{3}{12}$ - 6 $\frac{11}{12}$ ")
	Zusammen	4 $\frac{3}{12}$ Jahre	(0 $\frac{3}{12}$ - 6 $\frac{11}{12}$ Jahre)
Gruppe 4 :	Jungen	9 $\frac{11}{12}$ Jahre	(7 $\frac{1}{12}$ - 14 $\frac{3}{12}$ Jahre .)
	Mädchen	10 $\frac{4}{12}$ "	(7 $\frac{4}{12}$ - 13 $\frac{9}{12}$ ")
	Zusammen	10 $\frac{1}{12}$ Jahre	(7 $\frac{1}{12}$ - 14 $\frac{3}{12}$ Jahre)

2.-----Methode

Durch den Rosettentest werden Membranrezeptoren auf den T-Zellen sichtbar gemacht. Das Prinzip besteht darin, daß diejenigen Zellen, auf denen Rezeptoren erwartet werden (die T-Lymphozyten), gemischt werden mit Signalzellen, die auf ihrer Oberfläche die korrespondierende Rezeptor-bindende Substanz tragen (heterologe Erythrozyten) und sich daraufhin morulaähnlich an die Oberfläche der T-Zellen lagern werden[91]. In diesem speziellen Fall sind es die durch den Thymus geprägten Lymphozyten, die in der Lage sind, Schafererythrozyten an sich zu binden (siehe folgende Abbildungen).



Spontan bedeutet in diesem Fall, daß Rosetten entstehen ohne vorherige Immunisierung des Lymphozytenspenders mit den entsprechenden heterologen Erythrozyten und ohne daß zuvor Antigene auf die Erythrozytenoberfläche aufgebracht wurden[153].

Im Lichtmikroskop unterscheiden sich die Spontanrosetten morphologisch nicht von den Immun- oder Komplementrezeptor-Rosetten, mit denen unter bestimmten Voraussetzungen unter anderem eine Subpopulation der B-Lymphozyten nachgewiesen werden kann, indem mit spezifischen Anti-Erythrozyten-Antikörpern plus Komplement beladene Erythrozyten auf den entsprechenden B-Zellen haften bleiben[104]. Diese Immunrosetten werden auch EAC-Rosetten genannt (d.h. Erythrocyt - Anti-Erythrocyt - Antikörper - Complement) im Gegensatz zu den spontanen E-Rosetten (Erythrocyt).

Die EAC-Rosetten entstehen durch Immunreaktionen, indem eine bestimmte Untergruppe der B-Lymphozyten an ihrer Membran Komplementrezeptoren trägt, die die mit einem EAC-Komplex beladenen Erythrozyten an sich binden. Über die Art der Bindung bei den E-Rosetten ist dagegen noch nichts Genaues bekannt. Die Tatsache, daß bereits die Thymozyten zur Rosettenbildung fähig sind, ist ein Beweis dafür, daß die Bindung zwischen den Zellen im E-Rosettentest nicht immunologischer Natur sein kann[153], wie Z a a l b e r g [185] zunächst

vermutet hatte. Er nahm an, daß spezifische Antikörper auf der Membran der T-Lymphozyten die Bindung von heterologen Erythrozyten bewirken. Vermutlich liegt jedoch eine zufällige Kreuzreagibilität von Erythrozyten verschiedener Spezies mit Oberflächenrezeptoren menschlicher Lymphozyten vor, die unter normalen Bedingungen mit autologer, nicht-immunologischer Adhärenz befaßt sind[153] im Gegensatz zu den Immunrosetten, die von mehreren Zellarten und außerdem sowohl mit iso- als auch mit autologen Erythrozyten gebildet werden können[149]. Vereinzelt sollen auch Monozyten und Makrophagen im Zentrum von E-Rosetten gefunden worden sein[30,137]. Daß es sich bei den Spontanrosetten nicht um eine immunologische Bindung handelt, zeigten schließlich P a p a m i c h a i l et al.[128], indem sie nachwiesen, daß die Rosettenbildung unabhängig von Agglutinin-titern gegen Schafererythrozyten stattfand und keine Hemmung der Rosettenbildung durch Vorbehandlung mit Anti-Ig-Serum zu erreichen war[18,58,91].

Es sind inzwischen zahlreiche Abwandlungen des ursprünglich von B a c h et al.[12] angegebenen Rosetten-tests getroffen worden. Die Folge davon ist, daß sich Methoden und Resultate von Institut zu Institut sehr unterscheiden und kaum miteinander verglichen werden können: So schwanken z.B. die Angaben für rosettenbildende T-Zellen beim Erwachsenen zwischen 30 % [27,103,

128,176,179,181] und 80 % [7,18,30,31,40,59,74,91, 94,95]. Zudem werden meist nur die Prozentzahlen rosettenbildender Zellen und nicht deren Gesamtzahl pro mm³ Vollblut angegeben, wodurch die Beurteilung der Gesamtheit zirkulierender T-Lymphozyten unmöglich wird. Bis zur Einführung einer von der IUIS bereits vorgeschlagenen Standardmethode[2] wird ein Vergleich eigener Ergebnisse mit denen anderer Untersucher praktisch nicht möglich sein, insbesondere dann nicht, wenn exakte Angaben über das angewendete Verfahren fehlen. Jede kleine Abwandlung im Testverfahren kann erhebliche Änderungen im Ertrag rosettenbildender Zellen bewirken[30,149].

Wir führten den E-Rosettentest wie folgt durch:

Die Blutentnahmen erfolgten stets morgens um 8 Uhr wegen der bekannten tageszeitlichen Veränderungen im Blutbild[29] und da körperliche Betätigung offenbar einen Einfluß auf die T/B-Relation zuungunsten der T-Zellen ausüben kann[160].

a) Herstellung der Lymphozyten-Suspension

4 ml Venenblut, durch Zusatz von 0,3 ml Thrombo-Vetren (= 600 I.E.Heparin-Natrium, Fa.Promonta) ungerinnbar gemacht, wurden in einem Reagensglas auf 5 ml Ficoll¹⁾

geschichtet; beide Medien hatten Zimmertemperatur.

Bei 1600 UPM (=350 g) wurde nun das Röhrchen 30 min zentrifugiert, anschließend die Serumschicht abpipettiert und verworfen, der darunter befindliche Lymphozytenring ebenfalls sorgfältig abpipettiert ohne Mitnahme des unterschichteten Ficoll und in 5 ml eines Puffers (Medium 199²⁾) zweimal 10 min gewaschen: zunächst bei 1850 UPM (=460 g), dann bei 1950 UPM (=500 g), da sich erfahrungsgemäß bei höheren Umdrehungszahlen mehr Lymphozyten absetzen. Nun wurde das Medium abgegossen, und zurück blieb eine Lymphozytensuspension, die zu ca.95% aus Lymphozyten und 4-9% Granulozyten- und Monozytenkontamination bestand. Durch erneutes Verdünnen mit Medium 199 wurde nun die Aufschwemmung auf $4.000 \text{ Lymphozyten/mm}^3 = 4 \text{ Mill./ml} = 4 \times 10^3/\text{mm}^3$ eingestellt.

b) Die Präparation der Schafererythrozyten

Die Verwendung von Schafererythrozyten hat sich allgemein durchgesetzt, nachdem Untersuchungen gezeigt haben, daß mit ihnen der Ertrag an rosettenbildenden humanen Lymphozyten am größten ist[27,103,149].

1) Ficoll (Fa.Isoparque) = ein Flotationsmittel. Polymerisat aus Aqua dest.130,4 ml, Urografin 76%-ig 20 ml und Natriumazid 0,05 g. Dichte 1,556 g/cm³ = 1.0765.

2) Medium 199 (Fa.Flow-Laboratories,Bonn): Earle's Salze mit Puffer und L-Glutamin, ohne Natriumkarbonat.

Das Hammelblut, das wir wöchentlich aus dem Bakteriologisch-Serologischen Institut der Städtischen Krankenanstalten Braunschweig bezogen¹⁾, wurde bis zu seiner Verwendung bei 4°C. in sterilem Alsever-Puffer²⁾ verwahrt.

Die zum Rosettentest benötigte Suspension stellten wir her, indem wir 5 ml Medium 199 auf 1 ml Hammelblut gaben, die Mischung 15 min bei 3000 UPM (=1200 g) zentrifugierten, den Überstand verwarfen, nochmals 5 ml Medium 199 zu dem Sediment gaben und die Erythrozyten ein zweites Mal 15 min bei 3000 UPM wuschen. Nach Abgießen des Puffers blieb in dem Röhrchen ein Sediment aus Hammelerythrozyten zurück, von dem nun 0,05 ml mit 10 ml Medium 199 gut durchmischt wurden.

5 ml dieser Suspension wurden nun 10 min bei 3000 UPM zentrifugiert, das Medium wieder verworfen und zu dem verbliebenen Sediment 5 ml frischer Puffer gegeben. Auf diese Weise erhielten wir eine 3 mal gewaschene Aufschwemmung von Schafererythrozyten. Diese wurde schließlich 30 min mit 0,1 ml (=250 E/U) Neuraminidase³⁾ bei

1) Dem Leiter des Institutes, Herrn Dr. K r e t h, sei auch an dieser Stelle für sein Entgegenkommen gedankt.

2) Alsever-Puffer: pro Liter 20,5 g Dextrose; 8,0 g Na-Citrat; 0,552 g Ac.citricum; 4,2 g NaCl.

3) Neuraminidase aus Cholera-Vibrionen, Behring-Werke.

37°C. inkubiert, anschließend 10 min bei 3000 UPM zentrifugiert und zuletzt zweimal in je 5 ml Medium 199 gewaschen. Nach Abgießen des Puffers waren die Hammelerythrozyten fertig bereitet.

c) Herstellung und Zählung der E-Rosetten

Zu einem Tropfen der vorbereiteten Hammelerythrozyten gaben wir nun exakt 5 ml Medium 199, sodaß eine 0,5%-ige Erythrozytenaufschwemmung ($=50.000/\text{mm}^3 = 5 \times 10^4/\text{mm}^3 = 50 \text{ Mill. Erythrozyten/ml}$) entstand und entnahmen dieser genau 0,2 ml, die wir zu ebenfalls 0,2 ml der auf $4.000 \text{ Lymphozyten}/\text{mm}^3$ eingestellten Lymphozytensuspension gaben, gründlich mittels mehrmaligen Pipettierens durchmischten und 5 min bei 37°C. inkubierten. Anschließend wurde das Gemisch aus humanen Lymphozyten und Hammelerythrozyten 5 min bei 1100 UPM ($\approx 220 \text{ g}$) und Raumtemperatur zentrifugiert und danach eine Stunde in Eiswasser inkubiert.

In der Zwischenzeit wurden Objektträger auf Eis gekühlt und auf ihre Oberflächen kleine Kreise aus Vaseline gezeichnet.

Nach Beendigung der Inkubation und Abgießen des Überstandes wurde ein Tropfen des Sediments auf einen der gekühlten Objektträger in den Vaselinekreis gebracht und befand sich nach Auflegen eines Deckgläschens in

einer kleinen Kammer. Unter dem Lichtmikroskop (Öl-
immersionslinse) zählten wir nun an 4-5 verschiedenen
Stellen des Präparates je 100 Lymphozyten aus und er-
mittelten den jeweiligen Prozentsatz rosettenbildender
Zellen. Dabei wurde eine Rosette erst als positiv be-
wertet, wenn mindestens 3 Hammelerythrozyten an einem
Lymphozyten hafteten. Aus diesen 400-500 Auszählungen
nahmen wir das arithmetische Mittel, und mit Hilfe
dieses Wertes sowie des gleichzeitig aus derselben
Blutprobe des Patienten differenzierten Blutbildes
ließ sich die Anzahl rosettenbildender Lymphozyten/mm³
errechnen.

3.-----Ergebnisse

a) Gesamt-Leukozytenzahl (Leuko/mm³)

Bei den 263 Einzeluntersuchungen schwankt die Leukozytenzahl zwischen 3.200 und 19.100/mm³ und beträgt im Mittel für alle Altersgruppen zusammen 8.530/mm³.

In der ersten Lebenswoche liegt der Mittelwert bei 9.200 Leuko/mm³ (s = 3.660), steigt im Laufe des ersten Trimenon auf 9.560 ± 2.760/mm³ an und fällt dann kontinuierlich über 7.500 ± 2.290/mm³ im Kleinkindalter auf 6.820 ± 2.960/mm³ jenseits des 7.Lebensjahres ab.

Dieser Abfall der Gesamt-Leukozyten im Verlaufe des Kindesalters von im Mittel 9.560 auf 6.820/mm³ ist aus Tab.II und Abb.5 u.6 ersichtlich.

Aufgrund der großen Varianzen ergibt sich unter den Resultaten der 4 Gruppen und ihrer Untergruppen statistisch keine Signifikanz; lediglich bei Vergleich der Testergebnisse der ehem.reifen Neu- und der ehem.Frühgeborenen jenseits des 7.Lebens-
tages ($\bar{x}$ = 10.250 ± 2.560 bzw. 8.590 ± 2.870/mm³)
läßt sich ein signifikanter Unterschied auf dem

1%-Niveau errechnen ($p < 0,01$) ¹⁾.

- b) Prozentualer Anteil der Lymphozyten im peripheren Blutbild (Ly %)

Im Mittel haben die von uns untersuchten Kinder eine Lymphozytose von 54,8 %. Die Einzelwerte liegen zwischen 11 und 92 %.

Einzelheiten können aus den Tab.II-IV sowie den Abb.3, 5 u.7 abgelesen werden.

In der ersten Lebenswoche und jenseits des 7.Lebensjahres überwiegen im peripheren Blutbild die Granulozyten mit 48 ± 15 bzw. 44 ± 12 %, während in der dazwischen liegenden Zeit eine Lymphozytose von 58 ± 16 bis 62 ± 10 % vorherrscht.

Abb.3 zeigt ebenfalls, daß nach dem 7.Lebenstag eine Lymphozytose von über 50 % auftritt, im Kleinkindalter bestehenbleibt und jenseits des 7.Lebensjahres wieder verschwindet. Der Unterschied zwischen den Ergebnissen der Gruppen sowohl um die 1. als auch um die 2.Lymphozytenkreuzung herum ist statistisch hoch signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,1 % ($p < 0,001$).

¹⁾ t-Test nach S t u d e n t [33,141]

Abb.4 stellt den Granulozyten/Lymphozyten-Quotienten grafisch dar, an dem nochmals die Umkehr von der Granulozytose zur Lymphozytose um den 6./7.Lebens- tag und die Rückkehr zur Granulozytose im 6./7.Le- bensjahr abgelesen werden können.

Ein statistisch relevanter Geschlechtsunterschied bestand nicht.

Tab.III gibt die Ergebnisse der Gruppen 1 und 2 unterteilt in reife Neu-, Früh- und Mangelgeborene wieder und zeigt, daß Früh- und Mangelgeborene bereits vor dem 7.Lebenstag im Differentialblut- bild eine relative Lymphozytose aufweisen($53 \pm 16 \%$ bzw. $50 \pm 15 \%$) im Gegensatz zu den reifen, eutro- phen Neugeborenen ($45 \pm 15 \%$). Der Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant ($p > 0,2$).

Jenseits des 7.Lebenstages bis Ende des 1.Trimenon beträgt die Lymphozytose 60 ± 13 bis $66 \pm 15 \%$, wieder- um ohne errechenbare Signifikanz ($p > 0,1$).

Bei den reifen Neugeborenen kommt es nach der ersten Lymphozytenkreuzung zu einem signifikanten Anstieg des prozentualen Anteils der Lymphozyten im Differen- tialblutbild von 45 ± 15 auf $60 \pm 13 \%$ ($p < 0,001$); die Mangelgeborenen zeigen ein nicht so deutliches Ansteigen der Lymphozyten von 50 ± 15 auf $62 \pm 11 \%$ ($p < 0,01$); noch weniger unterschiedlich ist das Verhalten der Lymphozytose vor und nach dem 7.Lebens-

tag bei den Frühgeborenen ($53 \pm 16 \%$ gegenüber $66 \pm 15 \%$; $p < 0,02$) (s.Abb.7).

c) Die absoluten Lymphozytenzahlen (Lympho/mm³)

Im Mittel beträgt die absolute Lymphozytenzahl pro mm³ Vollblut in allen 4 Gruppen zusammen $7.410/\text{mm}^3$, die Einzelwerte schwanken zwischen 1.170 und $9.830/\text{mm}^3$.

Abb.5 u.6 zeigen, daß die Zahl der zirkulierenden Lymphozyten in den ersten Tagen nach der Geburt rasch zunimmt, ihr Maximum in der Säuglingszeit hat und dann kontinuierlich wieder abfällt.

Der Unterschied zwischen den Ergebnissen der Gruppen 1 und 2 ($\bar{x} = 4.170 \pm 1.520/\text{mm}^3$ bzw. 5.770 ± 1.940) ist statistisch signifikant auf dem 0,1%-Niveau ($p < 0,001$), ebenso derjenige zwischen den Resultaten der Gruppen 3 und 4, deren Mittelwerte und Standardabweichungen 4.400 ± 1.920 bzw. $2.870 \pm 990/\text{mm}^3$ betragen.

Die Abb.9 u.13 stellen das Verhalten der absoluten Lymphozytenzahlen vor und nach der 1.Lymphozytenkreuzung grafisch dar.

Ein statistisch relevanter Unterschied zwischen den Geschlechtern liegt nicht vor.

Innerhalb der Gruppe 1, also vor dem 7. Lebenstag, besteht kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen bei den reifen Neugeborenen ($\bar{x} = 4.290 \pm 1.440/\text{mm}^3$), den Frühgeborenen ($4.230 \pm 1.850/\text{mm}^3$) und den Mangelgeborenen (3.930 ± 1.360); ($p > 0,2$).

Frühgeborene zeigen nach dem 7. Lebenstag keinen signifikanten Anstieg der absoluten Lymphozytenzahl/ mm^3 ($5.640 \pm 2.610/\text{mm}^3$ gegenüber 4.230 ± 1.850 vor der Lymphozytenkreuzung; $p > 0,1$). Bei den Mangelgeborenen wird der Unterschied zwischen den Werten vor ($3.930 \pm 1.360/\text{mm}^3$) bzw. nach dem 7. Lebenstag ($5.350 \pm 1.790/\text{mm}^3$) deutlicher ($p < 0,05$), bei den reifen Neugeborenen ist er hoch signifikant (4.290 ± 1.440 bzw. $5.910 \pm 1.610/\text{mm}^3$; $p < 0,001$) (siehe Tab. III und Abb. 9).

d) Prozentzahl rosettenbildender Zellen (Ros %)

Bei den 263 Einzeluntersuchungen liegt der prozentuale Anteil derjenigen Lymphozyten, die mit Schaferythrozyten Rosetten bilden, zwischen 21 und 86 % gemessen an der Gesamtheit der Lymphozyten/ mm^3 und beträgt im Mittel 55,6 % aus allen 4 Gruppen zusammen.

Der Mittelwert der Gruppen 1 und 2 zusammen beträgt

57,9 %, derjenige der Gruppen 3 und 4 zusammen 52,1%.

Mittelwerte $\pm$ Standardabweichungen der einzelnen Gruppen sind aus Tab.II und III zu ersehen: bei den Klein- und Schulkindern beträgt der Mittelwert je 52% mit einer Standardabweichung von ± 12 bzw. ± 14 . Die in der 1.Lebenswoche untersuchten Säuglinge haben im Durchschnitt 58 ± 20 % rosettenbildende Lymphozyten im peripheren Blut, bei den Kindern jenseits des 7.Lebenstages bis Ende des ersten Trimenon sind es 61 ± 12 %.

Signifikante Unterschiede finden sich weder bei Vergleich der Resultate der Jungen und Mädchen ($p > 0,8$) noch bei Vergleich der Mittelwerte vor und nach der 1. bzw. 2.Lymphozytenkreuzung ($p > 0,4$ bzw. $p > 0,8$).

In Gruppe 1 ist die Prozentzahl rosettenbildender Lymphozyten bei den Frühgeborenen am niedrigsten (56 ± 15 %), bei den Mangelgeborenen am höchsten (61 ± 10 %); dazwischen liegt mit 59 ± 27 % der Mittelwert für reife Neugeborene. Statistisch sind die Unterschiede nicht signifikant ($p > 0,4$),

In Gruppe 2 dagegen läßt sich ein signifikanter Unterschied errechnen, und zwar zwischen reifen Neugeborenen (57 ± 14 %) und Frühgeborenen (65 ± 6 %): ($p < 0,01$). Nicht signifikant unterschiedlich sind die Werte der Mangelgeborenen (62 ± 11 %) gegenüber denjenigen der eutrophen Neugeborenen ($p = 0,2$) und

der Frühgeborenen ($p = 0,3$). Eine grafische Darstellung findet sich in Abb.9.

Vergleicht man jeweils die Ergebnisse vor und nach der 1.Lymphozytenkreuzung bei Neu-, Früh- und Mangelgeborenen, so zeigt sich lediglich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,02$) bei den Frühgeborenen, die jenseits des 7.Lebenstages den deutlichsten Anstieg rosettenbildender Lymphozyten zeigen von $56 \pm 15 \%$ auf $65 \pm 6 \%$, wie auch aus Abb.9 hervorgeht.

Die Abb.8b und 8c zeigen, daß Werte von über 60 % rosettenbildender Zellen im 1.Trimenon (Gruppen 1 und 2) zu überwiegen scheinen, während bei älteren Säuglingen und Kindern der Häufigkeitsgipfel zwischen 40-50 % liegt. Entsprechend differieren auch die Mittelwerte (Gruppen 1 und 2 zusammen 57,9 % ; Gruppen 3 und 4 zusammen 52,1 %), und entsprechend senkt sich nur scheinbar die Ros%-Kurve in Abb.5 ; dieser Knick muß jedoch unserer Meinung nach auf methodische Differenzen zurückgeführt werden(s.S.44).

- e) Die absoluten Zahlen rosettenbildender Lymphozyten pro mm^3 Vollblut (Ros/mm³)

Die absoluten Zahlen für die rosettenbildenden Zellen

liegen in den 263 Einzeluntersuchungen zwischen 632 und $6.899/\text{mm}^3$ Vollblut, der Mittelwert aus allen 4 Gruppen zusammen beträgt $2.651/\text{mm}^3$.

Abb.5 u.6 zeigen, wie mit Zunahme der Lymphozytose in der Blutbildformel gleichsinnig die Zahl der Rosetten pro mm^3 zunimmt, parallel zum Absinken der Lymphozyten/ mm^3 fällt und wie diese den Tiefpunkt jenseits des 7.Lebensjahres erreicht.

Wie auch bei den Lymphozyten/ mm^3 (s.S.30) ergeben sich hier statistisch signifikante Unterschiede auf dem 0,1%-Niveau, d.h.mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,1% ($p < 0,001$) bei Vergleich der Testergebnisse vor und nach der 1. sowie vor und nach der 2.Lymphozytenkreuzung ohne Geschlechtsunterschiede.

Im Einzelnen ermittelten wir folgende Werte, die auch Tab.II zeigt: In der ersten Lebenswoche, d.h.vor der 1.Lymphozytenkreuzung, finden sich im peripheren Blut der Neugeborenen im Mittel 2.500 ± 1.100 rosettenbildende Lymphozyten/ mm^3 , jenseits des 7.Lebenstages erreichen sie im ersten Trimenon den Maximalwert mit $3.490 \pm 1.230/\text{mm}^3$ und fallen dann kontinuierlich über $2.210 \pm 900/\text{mm}^3$ im Kleinkindalter nach der 2.Lymphozytenkreuzung auf $1.490 \pm 630/\text{mm}^3$ beim Schulkind ab.

Aus Tab.III und Abb.9 u.10 gehen die Resultate der reifen Neugeborenen im Vergleich zu denjenigen der Früh- und Mangelgeborenen hervor:

Die Mittelwerte der Neu-, Früh- und Mangelgeborenen vor dem 7.Lebenstag ($\bar{x} = 2.700$ bzw. 2.350 bzw. 2.320) unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,4$), ebensowenig diejenigen nach der 1.Lymphozytenkreuzung ($\bar{x} = 3.490$ bzw. 3.670 bzw. $3.470/\text{mm}^3$; $p > 0,4$). Dagegen zeigen sowohl die reifen Neugeborenen als auch die Früh- und Mangelgeborenen nach dem 7.Lebenstag signifikant höhere Werte für die rosettenbildenden Lymphozyten als in der ersten Lebenswoche. Bei den Früh- und Mangelgeborenen ist der Unterschied deutlicher ($p < 0,01$) als bei den reifen Neugeborenen ($p < 0,05$).

f) Ergebnisse aus 10 Längsschnittuntersuchungen im 1.Trimenon

Bei 10 Säuglingen haben wir Untersuchungen sowohl vor als auch nach der 1.Lymphozytenkreuzung durchgeführt. Die 10 Kinder waren zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung im Schnitt 4 Tage, bei der zweiten 17 Tage alt.

Die Ergebnisse können aus Tab.IV abgelesen werden.

Die Leukozytenzahlen/ mm^3 sowie der prozentuale Anteil rosettenbildender Zellen an der Gesamtheit

der Lymphozyten (Ros%) unterscheiden sich vor und nach dem 7. Lebenstag nicht signifikant ($p > 0,1$); Für die absoluten Zahlen rosettenbildender Zellen pro mm^3 (Ros/ mm^3) und die Gesamt-Lymphozyten (Lympho/ mm^3) ist ein statistischer Unterschied auf dem 5%-Niveau zu ermitteln ($p < 0,05$). Signifikant unterschiedlich sind ferner die prozentualen Anteile der Lymphozyten im Differentialblutbild: vor der 1. Lymphozytenkreuzung machen sie im Mittel $46 \pm 15 \%$ aus, danach $62 \pm 9 \%$ ($p < 0,01$).

Berücksichtigt werden muß, daß es sich um sehr kleine Stichproben handelt; dennoch geben diese Längsschnittuntersuchungen den Trend aus den 263 Untersuchungen wieder.

II. DISKUSSION

1. Diskussion der Methodik

a) Diskussion der Auswahl der Versuchspersonen

Um Normalwerte ermitteln zu können, wählten wir für unsere Untersuchungen nur gesunde Säuglinge und Kinder aus, da von einer Vielzahl von Krankheiten ein Einfluß auf die beiden Lymphozytenpopulationen bekannt ist oder vermutet wird:

An erster Stelle wären hier die angeborenen und erworbenen Immundefekte zu nennen [40,54,63,65,69, 95,118,148,162,176,179,181]; zudem erkrankten Kinder mit primären Defekten im Immunsystem 100 - 1000 mal häufiger[14,98] an malignen Prozessen insbesondere des lymphoretikulären Systems [70,98,120], sodaß es nahe liegt, auch bei diesen eine Beeinflussung der T- und B-Zellen zu vermuten, die auch z.T.bewiesen werden konnte [Leukosen:42,95,96,97,103,106,140, 148,159,173,178,179 - Burkitt-Lymphom:95,103,148 - solide Malignome:2,60,63,140,179]. Ferner ist eine Einflußnahme bekannt geworden bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen[25,66,118,148,170,172]. Auch Hormone [STH:6,11 - Corticosteroide:38,45,152,184 -

Testosteron:38 - Katecholamine:127], bestimmte Medikamente [4,26,72,144] und Chromosomenkrankungen[100,105] sowie schließlich Infektionskrankheiten[2,31,77,79,88,172,179] haben einen Einfluß auf die T- und B-Lymphozyten.

Abgesehen von den an Eiweißmangel leidenden intrauterin dystrophen Mangelgeborenen erfüllten alle Kinder den Tatbestand, keine der oben erwähnten Störungen zu haben (s.S.14).

b) Diskussion der Gruppeneinteilung

Im Laufe der Kindheit finden zwei sog.Lymphozytenkreuzungen statt: bei der ersten ändert sich die Relation Granulozyten:Lymphozyten zugunsten der letzteren, nach der zweiten überwiegen im peripheren Blutbild wieder die Granulozyten.

Der Zeitpunkt, an dem die Kreuzungen stattfinden, variiert unter den verschiedenen Autoren erheblich: Nach Untersuchungen von K a t o 1935 [93] findet die erste Kreuzung um den 6. 7.Lebenstag statt, die zweite um das 4./5.Lebensjahr. B r o c k [29] gibt die Ergebnisse mehrerer Untersucher an, nach denen die erste Kreuzung zwischen dem 3.-9.Tag erfolgt, die zweite um das 5./6.Lebensjahr. Einen Geschlechtsunterschied beschrieben die Autoren für keines der

beiden Ereignisse, ebensowenig T u r [166], der nach eigenen Untersuchungen die erste Lymphozytenkreuzung auf den 6.-8.Tag datierte und die zweite zwischen das 5. und 7. Lebensjahr. In den Wissenschaftlichen Tabellen der Documenta Geigy [43] werden der 7. Tag bzw.das 6.Lebensjahr angegeben.

Interessant ist ferner, daß offenbar geographische Unterschiede zu finden sind [29] und daß die Art der Säuglingsnahrung einen Einfluß auf die Lymphozyten haben soll, indem eine saurere Kost niedrigere Prozentzahlen (57%) im peripheren Blut bedingen soll als eine basischere Nahrung (50%)[29].

Nach unseren Untersuchungen findet die erste Lymphozytenkreuzung um den 6./7.Lebenstag statt: vorher haben die Neugeborenen im Schnitt 49 % Lymphozyten im Differentialblutbild, während sie nachher eine Lymphozytose von 62 % aufweisen. Bis zum 6./7.Lebensjahr überwiegen im peripheren Blut die Lymphozyten mit durchschnittlich 58 % und machen jenseits der 2.Lymphozytenkreuzung nur noch 44% aus.

Nach diesen von uns ermittelten Zeitpunkten der Lymphozytenkreuzungen richteten wir uns in der Einteilung der 4 Gruppen: die Gruppen 1 und 2 liegen um den Zeitpunkt der 1.Lymphozytenkreuzung bis Ende des ersten Trimenon, die Gruppen 3 und 4 ab dem

zweiten Trimenon um den Zeitpunkt der 2.Lymphozytenkreuzung.

Während wir die Gruppen 3 und 4 nach dem Geschlecht unterteilten, erfolgte in den Gruppen 1 und 2 eine Aufteilung nach Reife- und Ernährungszustand (Tab.I).

c) Diskussion der Rosettenmethode

Seit seiner Erstbeschreibung durch B i o z z i et al.[21] hat der E-Rosettentest zahlreiche Abwandlungen erfahren. Auf die Problematik derjenigen Methoden, die sich von der unsrigen wesentlich unterscheiden (z.B."aktiver Rosettentest", Simultanachweis der T- und B-Lymphozyten), soll hier nicht näher eingegangen werden, sondern wir wollen im Folgenden nur diejenigen Punkte des von uns angewendeten Verfahrens diskutieren, die zum Erreichen optimaler Resultate beachtet werden müssen.

B r o w n et G r e a v e s [30] sprechen von Verlusten zwischen 5 und 100% bei Nichtbeachtung eines der wesentlichen Punkte der Methodik wie z.B. Verwendung überalterter Schafer erythrozyten (s.S.48), zu seltenes oder zu häufiges Waschen der Lymphozyten (s.S.46) oder zu heftiges Pipettieren (s.S.58).

Auch wir machten die Erfahrung, daß bereits geringe methodische Differenzen einen nicht unerheb-

lichen Einfluß auf die Rosettenbildung haben: wir begannen unsere Untersuchungen mit den älteren Säuglingen und Kindern (Gruppen 3 und 4), die wir in den Monaten Januar - April durchführten und setzten sie von Mai - August an den Säuglingen des 1. Trimenon fort (Gruppen 1 und 2).

Der Mittelwert für die Prozentzahl rosettenbildender Zellen (Ros%) der Gruppen 3 und 4 liegt mit 52,1 % deutlich unter demjenigen der Gruppen 1 und 2 von 57,9 % (s.S.31). Den Grund für diese Differenz sehen wir darin, daß wir in der Zwischenzeit kleine Abwandlungen in der Methodik getroffen hatten: die Untersuchungen der Blutproben der älteren Kinder begannen wir im Gegensatz zu denjenigen der Neugeborenen und jungen Säuglinge nicht unmittelbar nach der Abnahme um 8 Uhr, sondern erst gegen 10-11 Uhr; solange lagerten die Röhrchen im geheizten Labor. Ferner wuschen wir anfangs (also bei den Gruppen 3 und 4) die Lymphozyten dreimal, später nur noch zweimal und auch die Hammelerythrozyten in der Anfangsphase einmal mehr als in der zweiten Versuchsreihe. Auf diese geringfügig erscheinenden methodischen Differenzen führen wir es zurück, daß der prozentuale Anteil rosettenbildender Lymphozyten bei den Kindern der Gruppen 3 und 4 scheinbar niedriger liegt als bei denjenigen der Gruppen 1 und 2 (s.auch Abb. 8b u.8c) und verzichteten auf einen statistischen Vergleich der beiden Hauptgruppen untereinander. Der Abfall der Ros%-Kurve in Abb.5

ist unserer Ansicht nach vorgetäuscht, denn Nachuntersuchungen an älteren Kindern mit der bei den Säuglingen des 1. Trimenon angewendeten Methode ergaben nun auch für die Gruppen 3 und 4 höhere Werte als die hier mitgeteilten (55 - 65 Ros%).

Zahlreiche Erfahrungen, die wir z.T. in Voruntersuchungen machten, wurden inzwischen auch in der Literatur von anderen mitgeteilt; ein Zweck dieser Arbeit soll sein, eine Synopse der Fehlermöglichkeiten zu geben.

- 1.) Die Blutentnahme erfolgte aus einer Kopf- oder Armvene, indem wir das Blut frei in ein mit 0,3 ml Thrombo-Vetren^R beschicktes steriles Reagensglas abtropfen ließen.

Wir verwendeten damit eine relativ hohe Dosis von 150 E Heparin-Na/ml Blut, trotzdem war nicht selten, insbesondere bei Neugeborenen, das Blut geronnen und unbrauchbar.

In der Literatur werden Angaben über 5 - 10 - 20 E [59,113,173,174] und über 100 E/ml Blut [181] gemacht.

Eine Hemmung der Rosettenbildung bei Verwendung von EDTA wurde von J o n d a l [91] mitgeteilt, konnte aber von anderen nicht bestätigt werden [2,140].

2.) Isolierung der Lymphozyten: Ideal wäre die Durchführung des Rosettentests in Vollblut, doch scheint eine entsprechende Methode noch nicht ausgereift [27, 30, 31]. Sie hätte den Vorteil, daß nicht durch mechanische Manipulationen während der Lymphozyten-separation möglicherweise artefizielle Veränderungen der T/B-Relation verursacht würden.

Zur Isolierung von Lymphozyten gibt es zwei Wege: 1. Adhäsion der Granulo- und Monozyten an Nylon- bzw. Glaswolle oder an Eisenpartikel [18, 19, 27, 41, 89, 103, 109] und anschließende Entfernung der Erythrozyten durch Dextransedimentation oder Hämolysen [27, 31, 89, 109, 140] und 2. Zentrifugation des defibrinierten oder besser heparinisierten [31] Blutes durch einen Dichtegradienten (z.B. Ficoll), wodurch sich die relativ schwereren Erythrozyten und Granulozyten absetzen. Letzteres Verfahren zur Lymphozytenisolierung, das von Böyum [24] inauguriert wurde, hat sich durchgesetzt, da die Ausbeute an vitalen Zellen mit ihm am größten ist und offenbar auch keine relative Anreicherung mit T- oder B-Zellen erfolgt [31, 81].

Da bei Verwendung von Neuraminidase (s.S. 51) die Lymphozyten auch mit autologen Erythrozyten Rosetten zu bilden vermögen [149], ist auf eine möglichst weitgehende Entfernung humaner Erythrozyten Wert zu legen. Ohne Neuraminidase-Behandlung stört Kontami-

nation mit autologen Erythrozyten ebenfalls, denn diese hemmen die Rosettenbildung, allerdings erst dann, wenn sie den Schafererythrozyten quantitativ überlegen sind [149].

H a r r i s et al.[81] wiesen nach Ficoll-Zentrifugation eine Erythrozytenkontamination von 10% nach, bei P a p a m i c h a i l et al.[128] waren nach Plasmagel-Sedimentation keine Erythrozyten in der Lymphozytensuspension zu finden. Auch bei uns fanden sich in Stichproben nur gelegentlich ganz vereinzelt Beimengungen von humanen Erythrozyten.

Die Kontamination mit Nicht-Lymphozyten wird angegeben mit 1 - 5 % [30,42,57,89,91,128,178] bis zu 15 % [2,54,64,103,181] und betrug bei uns im Mittel 4 - 9 % (Granulozyten 2 - 5 % , Monozyten 2 - 4 %).

Nachdem Granulozyten keinen Einfluß auf die Rosettenbildung haben[18,27,103,149], bleibt nur die Frage, welche Rolle die Monozyten und Makrophagen spielen, die offenbar einige Oberflächenmarker mit den Lymphozyten gemeinsam haben[2]; ob diese aber T-Zell-markern gleichen, bleibt umstritten. In geringer Zahl sahen B r o w n [30] und R e y e s [137] zwar Makrophagen im Zentrum von Rosetten, doch gelang es B e n t w i c h et al.[18] elektronenoptisch nicht, diese Befunde zu bestätigen. Er hatte dasselbe Verfahren zur Lymphozytenisolierung angewendet wie wir auch. L a y [103] sah

ebenfalls keine Beteiligung anderer Zellen an der Rosettenbildung. Die IUIS meint in ihrem Vorschlag zur Standardisierung des Rosettentests [2], man solle nicht danach trachten, auch den letzten Nicht-Lymphozyten zu entfernen, da hohe Lymphozytenverluste die Folge wären.

Die früher verbreitete Ansicht, bei Verwendung nicht-silikonisierter Röhrchen werde durch Adhäsion der Lymphozyten ihr Anteil in der Suspension reduziert, konnte inzwischen durch vergleichende Untersuchungen widerlegt werden [149]. Auch die Vermutung, B-Zellen könnten leichter adhäsieren als T-Zellen[173], wodurch eine Änderung der T/B-Relation infolge selektiven B-Zell-Verlustes bewirkt würde, konnte nicht bestätigt werden[161].

Das Zentrifugieren, das in diesem Abschnitt des Rosettentests also nicht unbedingt in silikonisierten Glas- oder Plastikröhrchen erfolgen muß [149], wird in den meisten Fällen bei 400 g für die Dauer von 20-40 min durchgeführt. Nur wenige Autoren geben höhere Zentrifugenkraft an[64,128].

Wir zentrifugierten das Blut 30 min bei 1600 UPM (= 350 g).

Nach Beendigung der Lymphozytenseparation sind bei dieser Methode noch mehr als 95 % der Lymphozy-

ten vital, geprüft durch den Trypanblau-Test[89,159].

- 3.) Der Waschvorgang ist insofern kritisch, als weniger als 2- und mehr als 3-maliges Waschen zu verminderter Rosettenbildung führen soll[30,31].

A i u t i et al.[2] fordern als Einzige mindestens 5-maliges Waschen vor und 2-maliges nach der Zentrifugierung. G a l i l i et al.[64] wuschen nur einmal.

Unsere Erfahrungen wurden bereits auf Seite 41 erwähnt.

Zum Waschen der Lymphozyten fanden die auf Seite 50 aufgeführten Medien Verwendung.

- 4.) Die Haltbarkeit der fertig bereiteten Lymphozyten ist sehr begrenzt [27]. Ist eine Durchführung des Rosettentests nicht innerhalb von 1 - 2 Stunden möglich, müssen die Lymphozyten in Suspensionsmedium im Eiswasserbad aufbewahrt werden und sind unter diesen Bedingungen bis zu 24 Stunden für den Rosettentest brauchbar[20,149]. S t e e l et al.[161] inkubierten grundsätzlich die Lymphozyten zunächst über Nacht in Gegenwart von 10-25%-igem fötalem Kälberserum.

5.) Die Schafererythrozyten: S t e e l et al.[161] messen der Auswahl der Schafererythrozyten die größte Bedeutung zum Gelingen des Rosettentests überhaupt zu und berichten ebenso wie S e i l e r et al.[149], daß es unter Schafen gute und schlechte Erythrozytenspender gebe. Man solle daher das Blut entweder von einigen ausgesuchten Schafen oder aber aus einem Spenderpool verwenden[2,109].

Wir bezogen das Hammelblut wöchentlich von zwei Tieren des Bakteriologisch-Serologischen Institutes der Städtischen Krankenanstalten Braunschweig (Ltd.Arzt: Dr.Kreth); die Erythrozyten beider Hammel waren gleich gute Rosettenbildner.

Die ausschließliche Verwendung von Schafererythrozyten zur Durchführung des E-Rosettentests setzte sich durch, nachdem sich in vergleichenden Untersuchungen mit verschiedenen Tierspezies herausgestellt hatte, daß Schafererythrozyten die größte Affinität zu menschlichen T-Lymphozyten haben[27,103,149]. Bei Verwendung von Ziegenerythrozyten sind die Ergebnisse fast gleich gut[149], bei Schweine-, Hunde- und Pavianerythrozyten sind die Erträge geringer[9,103,149], mit Erythrozyten von Vögeln, Nagetieren, Pferden, Rindern, Menschenaffen und Menschen bilden humane Lymphozyten unter den üblichen Bedingungen keine Rosetten[9,27,103,149], abgesehen von den autologen Rosetten nach Neuraminidase-Behandlung(s.S.43).

Die Bindung von Erythrozyten bestimmter Spezies scheint nicht auf für diese eine Tierart spezifischen Lymphozytenrezeptoren zu beruhen, denn Lay et al. [103] fanden 15% Mischrosetten, wenn sie menschliche Lymphozyten zu einem Gemisch aus Schaf- und Schweineerythrozyten gaben.

Die Blutentnahme vom Schaf soll unter sterilen Kautelen direkt in Alsever-Lösung erfolgen [18,64,91, 109,162]. Einige Untersucher und auch wir bewahren das Vollblut bei 4°C. auf und isolieren durch 10-minütiges Zentrifugieren bei 300 g [149] sowie anschließendes Absaugen des Leukozytenüberstandes die Erythrozyten erst unmittelbar vor Gebrauch und waschen sie 2-3 mal in Suspensionsmedium [18,54,64,91,162]. Andere isolieren und waschen die Schaferythrozyten sofort nach Entnahme und bewahren sie bei 4°C. in Alsever-Lösung [2,27,161] bzw. in ACD-Stabilisator¹⁾ auf [103,149].

Die Haltbarkeit der Schaferythrozyten wird korrelierend zu der jeweils praktizierten Aufbewahrungsart mit zwei [2,31,103,161] bzw. drei Wochen [18,103] angegeben. Nach Ansicht der meisten Autoren sollten allerdings die zum E-Rosettentest verwendeten Erythro-

¹⁾ ACD = Citric-acid - Dextrose (Behring-Werke)

zyten nicht älter als eine Woche sein [30,31,162].
J o n d a l et al.[91] benutzten die Erythrozyten-
suspension bis Hämolyse auftrat.

- 6.) Der Einfluß des Suspensionsmediums auf die Rosetten-
.....
bildung wurde uns in Vorversuchen deutlich, als uns
einmal das bis dahin verwendete Medium 199 (pH =
7,2 - 7,4 ; Calcium = 3,3 mval/l, Magnesium = 1,81
mval/l) ausging, wir einen anderen Puffer benutzen
wollten und einen Abfall der Rosettenbildung auf
10-30% erlebten.

Nach M o r t o n et al.[114] liegt das pH-Optimum
zwischen 7,8 - 8,0 : saureres Milieu hemme die Ro-
settenbildung, alkalischeres führe zur Agglutination
der Lymphozyten. Die Mehrzahl der Untersucher arbeitete
jedoch mit saurerem pH und erhielt optimale
Werte bei einem pH zwischen 7,0 - 8,0 [91,149] bzw.
7,3 - 7,9 [4].

J o n d a l et al.[91] und M o r t o n et al.[114]
ermittelten, daß ein Ca- und Mg-freier Puffer geringere
Erträge liefert; P a r c e l l s [129] erreichte
dagegen gerade mit einem derartigen Medium die
höchsten Werte (bis zu 95% Rosetten). Die IUIS [2]
teilt mit, es genüge die Verwendung irgendeiner ge-
pufferten Salzlösung, die möglichst calciumarm sein

sollte, um Verklumpungen zu vermeiden.

Die in der Literatur verwendeten Puffer sind:

Medium 199 [128]

Earle's saline [30]

Hanks BSS [2,27,42,54,59,103,114,129,132,155]

Ham's F 10 Medium [161]

Dulbeccos Phosphat-Puffer [57,181]

Isotonische, polyionische Lösungen eigener Herstellung [91,149].

- 7.) Serumzusätze (iso- oder heterolog zu den zu untersuchenden Lymphozyten) wurden von B r a i n et al.[27] 1970 empfohlen, um die Resistenz der Lymphozyten gegenüber mechanischen Einflüssen zu verbessern sowie die gebildeten Rosetten zu stabilisieren. In der Folgezeit wurden derartige Zusätze von zahlreichen Autoren eingesetzt [2,18,30,42,74,94,128,132,155,159,161,177,178,179]. M o r t o n et al.[114] sahen keinen Einfluß auf die Anzahl gebildeter Rosetten durch Serumzugabe.

Wir verzichteten ebenfalls darauf, zumal wir zu der Erythrozytensuspension Neuraminidase zur Stabilisierung der Rosetten gaben.

8.) Es herrscht Einigkeit darüber, daß Neuraminidase die Rosettenbildung fördert und stabilisiert; der Wirkungsmechanismus ist jedoch noch weitgehend ungeklärt. Diskutiert wird, ob eine Änderung der elektrischen Ladung der Zellmembran die Bindung zwischen Lympho- und Erythrozyten erleichtert [171]; für diese Theorie sprechen diverse Beobachtungen: Elektronenoptisch sahen Bentwich et al.[19], daß sich die ohne Neuraminidase-Behandlung nur punktförmigen Berührungsstellen zwischen den Zellen in breite Haftflächen verwandeln und zahlenmäßig zunehmen wie man es ähnlich sonst bei den von B-Lymphozyten gebildeten Immunrosetten sieht (siehe Zeichnungen).

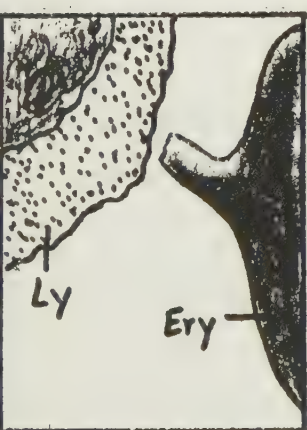


Abb. a



Abb. b



Abb. c

Abb. a und b zeigen in unterschiedlicher Vergrößerung je eine Haftstelle zwischen Lymphozyt und Erythrozyt bei einer Spontan- oder E-Rosettenformation.

Abb. c gibt die breiten Haftflächen zwischen 3 Erythrozyten und einem Lymphozyten wieder bei einer Immun- oder EAC-Rosettenformation.- Genauso sieht elektronenoptisch eine E-Rosette nach Vorbehandlung mit Neuraminidase aus (nach Bentwich et al.[19]).

Ob die Neuraminidase bestimmte Rezeptoren für Schaf-erythrozyten demaskiert oder die elektrische Oberflächenladung reduziert, auf diese Weise die Abstoßung unter den Zellen verringert und infolgedessen ein engerer Kontakt ermöglicht wird, ist noch ungeklärt [64]. In der Zellelektrophorese zeigen die mit Neuraminidase vorbehandelten Zellen eine deutlich herabgesetzte Beweglichkeit[64].

Obwohl im Prinzip die Behandlung der Lymphozyten oder der Erythrozyten mit Neuraminidase denselben Effekt hat[149], benötigt man zum Erreichen gleich starker Wirkung bei Inkubation der Erythrozyten ca. die 50-fache Enzymmenge[64].

Ebenfalls strittig war, ob nach Neuraminidase-Behandlung nicht nur die T-, sondern nun auch die B-Lymphozyten Spontanrosetten bilden. B e n t w i c k et al.[18,19] und E l l i o t et al.[51] meinten nachgewiesen zu haben, daß unter diesen Bedingungen ca.50% der Ig-positiven Lymphozyten spontan Schaf-erythrozyten an sich banden und ließen offen, ob es sich hierbei um B-Zellen oder aber um eine Subpopulation der T-Zellen handelt, die dem Nachweis ohne Neuraminidase entgeht, die ferner wie auch die B-Lymphozyten einen F_c -Rezeptor hat und Immunglobulin aus dem beigefügten AB-Serum adsorbiert. Auch A i u t i

und W i g z e l l [3] meinen, daß T-Zellen in bestimmten Reifungsphasen (wenn sie zu Blastogenese aktiviert werden) einen Rezeptor für aktivierten Komplement-Faktor 3 haben.

Wir haben die Ergebnisse von B e n t w i c h und E l l i o t [18,19,51] mit denen anderer Autoren verglichen, die unter Neuraminidase-Behandlung eindeutig keine Beteiligung der B-Zellen an der Rosettenbildung sahen[40,64,171] : es zeigte sich dabei, daß diese wie auch wir im Gegensatz zu B e n t w i c h und E l l i o t ohne Serum-Zusatz gearbeitet hatten.

D i c k l e r et al.[40] fanden zwar bei simultaner Bestimmung der T- und B-marker ca.3,6% Zellen, die beide Merkmale trugen, jedoch ohne und mit Neuraminidase gleich niedrige Prozentzahlen. Es dürfte sich hier um eine neben den Null- oder Killer-Zellen (s.S.6,79,89) vorkommende weitere Subpopulation der Lymphozyten handeln, die sog."doppelmarkierten", deren Zellen sowohl T- als auch B-Kennzeichen tragen und ca.2-4% der Gesamtheit der Lymphozyten ausmachen [18,30,31,40,42,91,132,140,143]. Einige Autoren spekulieren, daß es sich um "aktivierte" T-Zellen[32], um Thymozyten[132] oder aber um multipotente Effektorzellen handelt, die erst nach weiterer Differenzierung wie T- bzw.B-Lymphozyten reagieren[31,40].

Praktisch verhalten sich die mit Neuraminidase behandelten Lymphozyten wie Thymozyten: sie haben wie diese eine niedrige Oberflächenladung, bilden wie diese stabilere Rosetten, können auch mit autologen Erythrozyten Rosetten bilden und werden sehr empfindlich für die zytotoxische Wirkung verschiedener Allo-Antiseren (z.B. Kaninchenserum, das gegen menschliche Thymuszellen sensibilisiert wurde), was T-Zellen normalerweise nicht sind[64].

Wir inkubierten ausschließlich die Schafererythrozyten, und zwar mit 0,1 ml (=250 U) pro ml einer 0,5%-igen Erythrozytenaufschwemmung 30 min bei 37°C. Andere Autoren gaben 1 U/ml in HBSS, davon 0,2 ml zu einer 5%-igen Suspension[171] bzw. 50 U/ml in Medium zu 1×10^7 Erythrozyten[51] oder 50-60 U/ml einer 5%-igen Erythrozytensuspension[64].

Neuraminidase wurde häufiger zu den Erythrozyten gegeben[2,19,40,51,64,149,171] als zu den Lymphozyten[19,64,149].

Maximale E-Rosettenbildung erreichten W e i n e r et al.[171] bei Gabe von 0,2 U pro 1×10^9 Erythrozyten; doch zeigten auch 0,002 U bereits Wirkung.

- 9.) Die Mischung der Lympho- und Erythrozyten sollte in Plastik- oder silikonisierten Glasröhrchen mit weitem

Lumen erfolgen[2], um mechanische Alteration der gebildeten Rosetten gering zu halten.

Die Angaben über das Mischungsverhältnis Lymphozyten : Erythrozyten differieren erheblich: 1 : 1 [27], 1 : 5 [164], 1 : 8 [11,58,176,178,179,181], 1 : 10[51], 1 : 16 [149], 1 : 20 [91], 1 : 50 [2]. B a c h et al.[11] gaben an, daß umso mehr E-Rosetten gebildet wurden, je mehr Schafererythrozyten sie den Lymphozyten beifügten. L a s k o v [102] meint dagegen, daß die Erhöhung der Erythrozytenmenge über ein Verhältnis von 1 : 1 hinaus die spontane Rosettenbildung mindere.

Wir machten im Vorversuchen die Erfahrung, daß die Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten parallel zur Erhöhung der Erythrozytenzahl zunahm und geben nun 0,2 ml einer auf 50 Mill.Erythrozyten/ml = 50.000 Ery./mm³ eingestellten Suspension zu 0,2 ml einer auf 4 Mill.Lymphozyten/ml = 4.000/mm³ eingestellten Aufschwemmung. Das entspricht einem Verhältnis von Lymphozyten : Erythrozyten von 1 : 12-13.

- 10.) Das Zentrifugieren des Gemisches führen wir 5 min bei 220 g (=1100 UPM) und Raumtemperatur durch wie auch die meisten anderen Autoren[2,42,64,91,103,109,128, 159,162,171,178,179,181]. Bei geringerer Zentrifugierkraft, wie sie von einigen anderen angewendet wird[18, 19,30,54,74,128,132,155,161], sollen weniger Rosetten

gebildet werden[171].

- 11.) Auf eine Inkubation des Gemisches a) vor der Zentrifugation wird von einigen Autoren verzichtet[12, 109, 128, 149, 164, 179, 181]. Wir inkubierten die Mischung 5 min bei 37°C. wie auch andere[30, 42, 54, 64, 91, 132, 140, 159, 162, 171]. Längerdauernde Inkubierung soll zu einer Abnahme der Rosettenbildung führen[149].
- b) nach der Zentrifugation verarbeiteten lediglich B r a i n et al.[27], B a c h et al.[12] und W y b r a n et al.[176] die Mischung sofort ohne weitere Inkubation. Alle übrigen Untersucher und auch wir inkubierten das Gemisch erneut, nachdem L a y et al.[103] sowie S e i l e r et al.[149] berichtet hatten, daß die größte Ausbeute an rosettenbildenden Lymphozyten dann erreicht wird, wenn dem ersten Kontakt zwischen Lympho- und Erythrozyten bei 20-37°C. ein zweiter folgt mit einer Dauer von 60 min in Eiswasser; die sofort gebildeten Rosetten zerfallen zwar bei Erwärmung wieder, bilden sich aber desto zahlreicher und stabiler erneut bei Abkühlung auf ca. 0°C.
- Wir führten die zweite Inkubation 1 Stunde in Eiswasser (ca. 0,5°C.) durch wie auch andere Untersucher [18, 30, 42, 57, 64, 103, 109, 132, 159, 164]. Einige Autoren inkubierten nur 15 min[171] oder 30 min[128], andere wesentlich länger über 12-24 Stunden[54, 155, 162],

jeweils bei Temperaturen um $0 - 4^{\circ}\text{C}$. Wieder andere ließen das Gemisch 1 Stunde bei Raumtemperatur stehen[30,74,177,178], doch liegen Arbeiten darüber vor, daß unter diesen Bedingungen viele E-Rosetten wieder zerfallen[91,103,114,171].

Es ist denkbar, daß die niedrigeren Prozentzahlen rosettenbildender Zellen, die wir in unseren Gruppen 3 und 4 erhielten, z.T.auf Erwärmung am Arbeitsplatz zurückzuführen sind, denn diese Rosettentests wurden in Wintermonaten im geheizten Labor durchgeführt.

Bei kürzerer Inkubationsdauer (sog."aktiver" Rosettentest) werden nach Ansicht von F u d e n - b e r g et al.[60,179,180] nur die "aktiven" T-Zellen erfaßt, die auch "early-RFC" genannt wurden[54]. Sie machen ca.25% der Gesamt-T-Zellen aus, stellen möglicherweise die gerade immunologisch aktiven T-Lymphozyten dar und sollen daher ein genaueres Bild über die T-Zell-Kompetenz abgeben als die totale T-Zell-Zahl (s.S.67). Bei ihnen scheinen die bei der Rosettenbildung ablaufenden Prozesse gesteigert zu sein, sodaß sie einerseits leichter und rascher Rosetten formen und andererseits auf Antimetabolika anders reagieren als die "ruhenden" T-Lymphozyten[175]. Offenbar handelt es sich hier um dieselbe T-Zell-Subpopulation, die mithilfe von Anti-brain-Antisera von B r o w n et al.[30] als "strongly"- bzw.

"weakly"-reactive cells beschrieben wurden und/oder entsprechen den ruhenden T_x - Zellen ($=T_1$ - virgin cells) einerseits und den aktivierten T_y - Zellen ($=T_2$ - memory cells) und T_z - Zellen ($=T_3$ - effector cells) andererseits, die unterschiedlichen Theta-Antigen-Gehalt aufweisen[37,72,164].

- 12.) Das endgültige Resuspendieren des Gemisches nach der Eiswasser-Inkubation nehmen wir durch mehrmaliges vorsichtiges Aufziehen in eine weitleumige Pipette vor ebenso wie einige andere Untersucher[2,27,109, 149,155,161,181]. Bewährt haben sich außerdem leichtes Schütteln des Röhrchens[2,18,19,30,31,57,91,103, 132,162,177] oder Rotieren des Glases von Hand bzw. bei 15-30 UPM in der Zentrifuge[30,31,54,128,159, 164,171].

Jede heftige Manipulation führt zu nicht unerheblichem Verlust an gebildeten Rosetten[2,11,30,31, 91,161].

- 13.) Das Auszählen der E-Rosetten wurde von fast allen Autoren in der Zählkammer vorgenommen.

Wir stellten wie beschrieben (s.S.25) eine kleine Kammer her und betrachteten den Inhalt durch eine Öl-Immersions-Linse, um die Gefahr zu verringern,

nicht-rosettenbildende Lymphozyten mit anderen Zellarten oder Partikeln zu verwechseln. Ebenso verfuhr *J o n d a l* et al.[91], *S t j e r n s w ä r d* et al.[162] und *F e r g u s o n* et al.[54].

Da erfahrungsgemäß an verschiedenen Stellen auf dem Gläschen unterschiedlich dichte Zellansammlungen mit differierender T/B-Relation zu finden sind, zählen wir an 4-5 Stellen je 100 Lymphozyten aus, ermitteln so 4-5 Einzelwerte für die Prozentzahl rosettenbildender Zellen und erhalten das Endergebnis durch Bildung des arithmetischen Mittels.

Als Rosette wird meistens dasjenige Gebilde bezeichnet, bei dem sich mindestens 3 Schafer erythrozyten um einen humanen Lymphozyten gruppiert haben. Nur wenige Untersucher bewerten bereits einen einzigen Erythrozyten als positives Zeichen[18,19,40,132] oder zwei Erythrozyten[31,42,54], während auf der anderen Seite gelegentlich erst eine Formation mit mindestens 5 Erythrozyten als E-Rosette anerkannt wird[27,64].

- 14.) Anhand von Vitalitäts-Tests mit Trypanblau ermittelten *W e i n e r* et al.[171], daß nach Anwendung der eigenen Rosettenmethode noch 95% der Zellen vital waren. *B e n t w i c h* et al.[19] konnten,

nachdem sie wie auch wir die Methode von J o n d a l [91] angewendet hatten, 100% lebende Zellen nachweisen.

- 15.) Die Streuung der Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten wird in der Literatur mit weniger als 5% [155] bis 6% [149] angegeben, wenn verschiedene Untersucher ein und dieselbe Blutprobe untersuchten.

Wurde 1 Versuchsperson an mehreren Tagen wiederholt untersucht, so betrug der individuelle Variationskoeffizient 15% [149] bzw. 3% [181]. Auch D i c k l e r et al.[40] fanden eine sehr geringe individuelle Streuung, genaue Zahlenangaben wurden nicht gemacht.

Wurde 1 Versuchsperson an verschiedenen Tagen mehrmals von verschiedenen Untersuchern getestet, so betrug der Variationskoeffizient 25% [18,176].

Die methodische Streuung wird in der Literatur also als gering angegeben, wohl aber findet man große Schwankungen der Prozentzahlen rosettenbildender Zellen beim Individuum und unter den Individuen. Eine hohe Reproduzierbarkeit bei derselben Versuchsperson fanden nur B e n t w i c h und W y b r a n [18,176]. Die geringste methodische Streuung von weniger als 5% erhielten S t e e l et al.[161], wenn sie das Lymphozyten-Erythrozyten-

Gemisch über Nacht bei Raumtemperatur inkubierten.

In Vorversuchen an Erwachsenen fanden auch wir große Schwankungsbreiten beim Individuum an verschiedenen Tagen.

Bei den 263 untersuchten Kindern, über die hier berichtet wird, liegen die Variationskoeffizienten zwischen 1,6 und 14,9 % und betragen im Einzelnen:

Gruppe 1 : 4,9 %

Gruppe 2 : 1,9 %

Gruppe 3 : 3,4 %

Gruppe 4 : 3,6 %

Gruppe 1 und 2 zusammen : 2,2 %

Gruppe 3 und 4 zusammen : 2,5 %

alle 4 Gruppen zusammen : 1,6 %

Die methodische Streuung ist also auch bei dem von uns angewendeten Verfahren sehr gering.

16.) Bei Vergleich der Ergebnisse der Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten bei den einzelnen Untersuchern stellt man folgendes fest:

a) niedrige Prozentzahlen (10 - 30 %) findet man bei B r a i n et al.[27], der eine Rosette erst dann als positiv bewertete, wenn mindestens 5 Erythrozyten gebunden wurden, außerdem bei P a p a m i c h a i l et al.[128], die keine Neuraminidase verwendeten und das Lymphozyten-Erythrozyten-Gemisch vor der Zentrifugation nicht inkubierten, schließlich bei W y b r a n et al.[179,181], die den sog."aktiven"Rosetten-

test (s.S.57) durchführten ohne Inkubation des Gemisches, dafür aber mit Inkubation allein der Lymphozyten über 1 Stunde bei 37°C.

- b) sehr hohe Prozentzahlen (70 - 80 %) erhielten B e n t w i c h et al.[18,19], D i c k l e r et al.[40] sowie P o l l i a k et al.[132] : alle bewerteten eine E-Rosette bereits dann als positiv, wenn nur 1 Erythrozyt gebunden wurde.

Die stark differierenden Angaben über die Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten in der Literatur beruhen also auf methodischen Differenzen.

- c) Untersucher, die die T-Lymphozyten außer mithilfe des E-Rosettentests noch mit einem anderen Verfahren (Raster- bzw.Transmissionselektronenmikroskopie, Immunfluoreszenz) identifizierten, fanden eine exakte Übereinstimmung der Prozentzahlen rosettenbildender Zellen mit den Prozentzahlen sog."smooth"cells [132] von je 80%, allerdings bei den unter b) angegebenen Bedingungen. V i l l a und T a u b [169] dagegen fanden 14% weniger rosettenbildende als "smooth"Zellen; dabei gab es unter den smooth cells welche, die keine Rosetten bildeten und also wohl keine aktivierten T-Lymphozyten waren - unter den "hairy"cells befanden sich keine Rosetten. Mit der Immunfluoreszenzmethode fand T i l z [164] um 60% T-Zellen wie auch mithilfe des E-Rosettentests.

Der E-Rosettentest scheint also tatsächlich spezifisch für den Nachweis von T-Lymphozyten zu sein und je nach Methode mehr oder weniger Zellen je nach ihrem derzeitigen Aktivitätszustand zu erfassen: um die gerade immunologisch aktiven Zellen zu ermitteln, wird möglicherweise der sog."aktive" Rosettentest Bedeutung erlangen[60,179,180], während zur Zählung der Gesamtheit zirkulierender T-Lymphozyten die Methode von B e n t w i c h [18, 19], D i c k l e r [40], E l l i o t [51], P o l l i a k [132] und T i l z [164] vermutlich die geeignete ist, wobei eine Unterscheidung von T_1 - und T_2 -Zellen getroffen werden kann je nachdem, ob mehr oder weniger als 7 Erythrozyten pro Lymphozyt gebunden werden[51] : es gibt Krankheiten, bei denen nur die T_1 - oder die T_2 -Zellen vermindert sind bei normaler Gesamtzahl der T-Lymphozyten[2] (s.S.67).

- 17.) Eine Hemmung der Rosettenbildung erreicht man - abgesehen von den in den vorhergehenden Abschnitten besprochenen Fehlermöglichkeiten - 1) bei Temperaturen unter 0° oder über 37°C . [36,58,102,103,109], 2) durch toxische Substanzen wie Natriumacid, Iodacetamid oder Natriumcyanid[18,27,51,58]; demnach scheint die Rosettenbildung an lebende Zellen mit intaktem Stoffwechsel gebunden zu sein[18,27]. 3) durch Vorbehand-

lung der Lymphozyten mit Thrypsin oder Phospholipase A [36,50,91,94,171] : das läßt vermuten, daß die Rosettenbildung durch eine Membransubstanz zustande kommt, die schnell freigesetzt und metabolisiert wird (daher auch die Instabilität der Rosetten) und die gegenüber diesen Enzymen empfindlich ist. 4) durch Zusatz von Mitogenen wie PHA, ConA und PWM, die die Lymphozyten zu Blastentransformation stimulieren, wodurch sie die Fähigkeit Rosetten zu bilden möglicherweise verlieren [26,51,58] . 5) mithilfe von Immunsuppressiva (6-Mercaptopurin, Azathioprin, 6-Thioguanin, 5-Fluorouracil, Actinomycin C, Puromycin und Amethopterin[10,26,38,58], der Mechanismus ist noch unbekannt. 6) durch Anti-Lymphozyten- bzw. Anti-Leukämie - Seren[13,16,18,26, 27,94]. Uneinheitlich sind die Ergebnisse bei 7) Verwendung von Anti-Ig - Antikörpern: nur Anti- γ und Anti- μ -Seren bewirken eindeutig eine Hemmung der Rosettenbildung[149,176]. Es wurde daher vermutet, daß auf der Membran der rosettenbildenden T-Lymphozyten befindliche Ig-Ketten(z.B. γ -Ketten und μ -Ketten) durch Anti-Ig - Antikörper besetzt und auf diese Weise die sonst für das Haften der Schafererythrozyten verantwortliche Rezeptoren maskiert würden[149]. Andere Autoren fanden keine Hemmung der Rosettenbildung durch die verschiedenen Anti-Ig - Seren [64,91,128], sondern ein gleichzeitiges Vorkommen rosettenbildender Lymphozyten neben solchen mit Ig-Rezeptoren (=B-Zellen). Da Anti-Ig

also offenbar keinen Einfluß auf die Rosettenbildung hat, handelt es sich bei der Bindung zwischen Lymphozyten und heterologen Erythrozyten wohl nicht um einen immunologischen Vorgang[18].

d) Die Brauchbarkeit des E-Rosettentests für die Klinik:

Der E-Rosettentest ist auf dem Wege, in der Klinik breitere Anwendung zu finden in Diagnostik und Therapieüberwachung. Seine Ergebnisse geben ein Bild von dem zellulären Immunstatus, das nach Ansicht von Wybran et al.[181] gut übereinstimmt mit den Ergebnissen klassischer Tests, mit deren Hilfe man bisher die zelluläre Immunantwort testete (Hautreaktion auf verschiedene Antigene, in vitro-Reaktion auf PHA und andere Antigene, MIF-Produktion in vitro); im Gegensatz zu diesen Tests ist der E-Rosettentest verhältnismäßig einfach und schnell durchführbar und liefert gut reproduzierbare Ergebnisse, sofern einige kritische Punkte der Methode beachtet werden. Weiter stimmen die mithilfe des E-Rosettentests gewonnenen Ergebnisse gut überein mit denen anderer Verfahren zur T-Zell-Identifizierung wie Elektronenmikroskopie und Immunfluoreszenzmethode, die beide aufwendiger sind.

Für die Pädiatrie und hier insbesondere für die Neonatologie wäre der Test in einer Mikromethode wünschenswert, damit die technisch oft schwierige und sehr kleine Frühgeborene belastende Entnahme von ca. 4 ml Venenblut entfielen. Eine derartige Mikromethode aus Kapillarblut wurde bereits von Brown und Greaves [31] vorgestellt.

Ferner wäre es erstrebenswert, die Prozedur der Lymphozyten-Separation durch Verwendung von Vollblut [27, 31] umgehen zu können wegen der Gefahr, daß durch Isolierungsverfahren die T/B-Zell-Relation artefiziell mehr oder weniger verfälscht wird.

Simultanbestimmungen der T- und B-Zell-marker [40, 47, 140] würden ein vollständigeres Bild geben über die bisher bekannten Lymphozytenpopulationen: T- und B-Zellen, Null-Zellen und doppeltmarkierte Zellen; möglicherweise käme man durch genauere Kenntnis der Aufgabenbereiche und Funktionen der einzelnen Zellklassen zu neuen pathophysiologischen Erkenntnissen: so wäre ein exakteres Wissen über die O-Zellen sicher von Bedeutung, da in diese Gruppe sowohl Zellen mit noch nicht [37, 95] als auch solche mit nicht mehr [37] vorhandener Immunkompetenz zu gehören scheinen und zu ihr möglicherweise alle oder ein Teil der Killer-Zellen zu rechnen sind [180], deren Separierung eines Tages in der Tumorbildung Bedeutung er-

langen könnte[173]. Wahrscheinlich kommt jeder dieser T-Lymphozyten-Untergruppen ein ganz spezifischer Aufgabenbereich zu[60].

Ob der so."aktive"Rosettentest ein zutreffenderes Bild von der Größenordnung der gerade immunologisch aktiven Zellen abgibt, ist nicht bewiesen. F u d e n b e r g et al.[60,180] vermuten, daß es Krankheitsbilder gibt, bei denen die Gesamtzahl der T-Lymphozyten ($T-E_t$) zwar normal, hingegen die Zahl der aktivierten Zellen ($T-E_a$) reduziert ist, z.B.bei angeborenen Defekten der zellulären Immunität und metastasierenden soliden Tumoren. Die Gabe von Transferfaktor bzw.die BCG-Impfung führen zu einem Anstieg der $T-E_a$.

Vor allen Dingen ist allerdings zunächst einmal die Einführung einer standardisierten Methode erforderlich, damit nicht jedes Labor seine eigenen "Normalwerte" hat und ein Vergleich eigener Untersuchungsergebnisse mit den Resultaten anderer Autoren erleichtert wird.

2. Diskussion der Ergebnisse

Wie die Abb.5 zeigt, sagen weder Einzeldaten wie z.B. die Lymphozytenzahl/mm³ noch gar Prozentzahlen rosettenbildender Zellen für sich alleine betrachtet etwas aus. Daher soll hier keine Unterteilung in Einzelresultate erfolgen, sondern versucht werden, einen Überblick darüber zu geben, was anhand unserer Untersuchungen im Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren zur zellulären Immunantwort und ihrer Entwicklung im Kindesalter derzeit festzustellen ist.

Erschwert wird der Vergleich mit den Resultaten anderer dadurch, daß infolge methodischer Differenzen die Angaben über den prozentualen Anteil rosettenbildender Zellen an der Gesamtheit der Lymphozyten breit gestreut sind (s.S.61) und bislang kaum Untersuchungen über das Kindesalter vorliegen.

1) Diskussion der Veränderungen im weißen Blutbild im Laufe der Kindheit:

In der Literatur werden für die Neugeborenenperiode folgende Leukozytenwerte angegeben:

K a t o [93]	1935	:	bei Geburt	18.000-22.000/mm ³
				3./4.Tag 8.000- 9.000/mm ³
B r o c k [29]	1954	:	bei Geburt	15.000-20.000/mm ³
				3./4.Tag 10.000/mm ³

O p i t z [122]	1964	bei Geburt	9.500-19.700/mm ³
		3./4.Tag	7.700-11.900/mm ³
Wiss.Tab.[43]	1969	bei Geburt	9.000-30.000/mm ³
		3./4.Tag	keine Angaben

Im Vergleich dazu beträgt unser Mittelwert am 3./4.Lebens-
tag 9.700/mm³, derjenige bis zum 6.Tag einschließlich
9.200/mm³ (Tab.II). Nach einem vorübergehenden, stati-
stisch nicht signifikanten Anstieg auf im Mittel 9.560/mm³
bis Ende des 1.Trimenon fällt die Leukozytenkurve kontinu-
ierlich bis auf einen Mittelwert von 6.820/mm³ gegen Ende
der Kindheit ab (siehe Abb.5 und 6 sowie Tab.II). Dieser
Verlauf der Leukozytenkurve stimmt mit den in der Litera-
tur verzeichneten Verläufen überein [29,93,122,166]. Wegen
der fließenden Übergänge und großen Streubreiten ergibt
sich rechnerisch kein signifikanter Unterschied.

Bekanntlich überwiegen in den ersten Lebenstagen und
erneut etwa ab dem 7.Lebensjahr im weißen Blutbild die
Granulozyten (s.S.38), während der Säugling und das Klein-
kind eine Lymphozytose aufweisen. Ob diese bedingt wird
durch das Wachstumshormon (STH), das einen Lymphozyten-
-stimulierenden Effekt besitzt [6], oder durch ein Thymus-
hormon [13], dessen Blutspiegel parallel zur Lymphozyten-
kurve verläuft [7,13], ist noch nicht endgültig geklärt.

Unsere Resultate zeigen, daß die Lymphozytose durch

eine reale Zunahme der Lymphozyten entsteht und nicht etwa infolge einer relativen Zunahme bei Absinken der Granulozyten im Zuge der postnatalen Leukozytenreduktion (siehe Tab.II und IV sowie Abb.5 und 6).

Im Gegensatz zu Erwachsenen, die täglich ca. 2% ihres Lymphozytenbestandes neu bilden, sind es bei Kindern bis zu 5% des Lymphozytenpools, die täglich neu ausgeschüttet werden [165].

Da die Angaben über die Zeitpunkte der Lymphozytenkreuzungen in der Literatur so sehr differieren (s.S.38) und geografische Unterschiede beschrieben wurden [29], ermittelten wir die auf unsere Kinder zutreffenden Daten selbst, um nach ihnen eine Einteilung in 4 Gruppen zu treffen (s.S.15).

Wie aus Abb.3 und 4 zu ersehen ist, findet nach unseren Untersuchungen die 1.Lymphozytenkreuzung um den 5./6.Lebenstag statt, die 2. um das 6./7.Lebensjahr. Abb.4 gibt den Verlauf der Granulo-Lymphozyten - Relation im Kindesalter wieder: den größten Quotienten fanden wir kurz nach der Geburt mit $1,8 : 1$, wo K a t o [93] einen Wert von über $2,5 : 1$ ermittelte, den kleinsten im 2./3. Lebensjahr mit $0,3 : 1$; bei K a t o lag das Minimum im Zeitraum zwischen der 2.Lebenswoche und dem 5.Lebensjahr mit $0,7 : 1$. Abb.4 macht deutlich, daß zwischen dem 6.Lebenstag und dem 6./7.Lebensjahr der Quotient Granulozyten : Lymphozyten kleiner als 1 ist, also im

Differentialblutbild die Lymphozyten überwiegen.

2) Diskussion der Ergebnisse über rosettenbildende
Zellen:

In der Literatur wurden bisher nur wenige Untersuchungsergebnisse über die rosettenbildenden Lymphozyten im Kindesalter mitgeteilt, sodaß Vergleichsmöglichkeiten mit den Resultaten anderer kaum gegeben sind.

Da vermutet wird, daß sich der Lymphozytenpool Neugeborener aus anderen Zellpopulationen zusammensetzt als derjenige älterer Kinder und Erwachsener (s.S.75 und 79), interessierte es uns, ob mithilfe des E-Rosettentests postnatal andere Werte für den prozentualen Anteil der T-Zellen an der Gesamtheit der Lymphozyten gefunden werden. Ferner wollten wir untersuchen, ob zu den Zeitpunkten der sog. Lymphozytenkreuzungen eine Änderung der T/B-Relation zu beobachten ist, erkennbar an einer Änderung der Prozentzahlen rosettenbildender Zellen.

Die Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten sind nach unseren Untersuchungsergebnissen in allen Alters- und Reifestufen gleich hoch (s.S.31); zu demselben Resultat gelangten auch Brain et al.[27], Wybran et al.[181] und Ferguson et al.[54]. Im Gegensatz hierzu berichteten Smith et al.[155] sowie Fleischer et al.[57] über geringere Prozentzahlen roset-

tenbildender Zellen im Säuglingsalter im Vergleich zu Erwachsenen (Abb.11a).

Lediglich zwei Autoren [7,57] geben neben der Prozentzahl auch die absolute Zahl für die T-Zellen an, die in Abb.11b unserem Ergebnis gegenübergestellt worden ist. Angaben über reduzierte Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten beinhalten noch nicht, daß auch ihre absolute Zahl vermindert ist, denn einerseits kann eine prozentuale Abnahme der T-Zellen bei Zunahme der Gesamt-Lymphozyten infolge überwiegender B-Zell-Proliferation entstehen - auf der anderen Seite kann eine Zunahme des prozentualen Anteiles der T-Lymphozyten eine Abnahme ihrer absoluten Zahl pro mm^3 verdecken, wenn nämlich mit Reduktion der Gesamt-Lymphozyten sowohl die T- als auch die B-Zellen abnehmen, letztere jedoch in größerem Ausmaß.

A u g e n e r et al.[7] berichteten 1974 nach Untersuchungen an 12 Säuglingen im Alter von 3-12 Monaten im Vergleich zu 32 Erwachsenen, daß der prozentuale Anteil der rosettenbildenden Zellen von 77% auf 62% rückläufig war, während gleichzeitig ihre absolute Zahl von $1.900/\text{mm}^3$ auf $800/\text{mm}^3$ abfiel und eine Reduktion der Gesamt-Lymphozytenzahl von 2.500 auf $1.300/\text{mm}^3$ stattfand. In demselben Zeitraum stieg zwar der prozentuale Anteil der B-Zellen von 12% auf 23% an, ihre absolute Zahl blieb jedoch mit 300 bzw. $270/\text{mm}^3$ praktisch gleich. Hieraus wird ersichtlich, daß mit Rückgang der kindlichen Lymphozytose ledig-

lich die Zahl der thymusabhängigen Lymphozyten abnimmt. Die Autoren folgern, daß es die T-Zellen sind, die unter dem Einfluß eines Thymushormons im Kindesalter proliferieren und im Alter abnehmen. .

Daß ferner eine geringere Prozentzahl rosettenbildender Zellen wegen der höheren Lymphozytose im Kindesalter nicht auch eine Minderung der absoluten T-Zell-Werte/mm³ in dieser Altersstufe bedeutet, zeigen Untersuchungen von F l e i s h e r et al.[57] : sie berichteten 1975 über Untersuchungen an 18 Kindern im Alter von 1-18 Monaten, 23 Kindern zwischen 19.Monat und 10.Lebensjahr sowie 42 Erwachsenen : die T-Zellen hatten ihr Maximum im Säuglingsalter mit 2.970/mm³ und fielen auf 1.840/mm³ bei den älteren Kindern bzw. 1.910/mm³ bei den Erwachsenen ab. Im Gegensatz zu den Untersuchungen anderer [7] war bei ihnen die Prozentzahl der rosettenbildenden Lymphozyten vor dem 18.Lebensmonat mit 50% niedriger als nachher (57%). Auch blieb bei ihnen die Zahl der B-Zellen nicht konstant wie bei A u g e n e r et al.[7], sondern fiel ebenfalls ab von 26% auf 17% bzw.von 1.530 auf 540/mm³.

Zu denselben Ergebnissen waren 1973 d e L i m a und M i t s c h e r l i c h [106] nach Untersuchungen an 545 Kälbern und Kühen gelangt: die Prozentzahlen für die B-Zellen waren bei Kälbern und ausgewachsenen Tieren gleich hoch, die absoluten Zahlen der T- und B-Lymphozyten nahmen jedoch vom 1. bis 15.Lebensjahr kontinuierlich ab.

Abb.11a und 11b geben unsere Ergebnisse über Prozentzahlen rosettenbildender Lymphozyten und T-Zellen/mm³ im Vergleich zu den Resultaten anderer Untersucher wieder.

Etwas zahlreicher sind Untersuchungen über das Verhalten der B-Zellen im Laufe des Lebens, aus denen man mit Vorbehalt Rückschlüsse auf die T-Lymphozyten ziehen kann:

1972 berichteten F r ö l a n d und N a t v i g [59], daß sie bei 31 Neugeborenen im Nabelschnurblut höhere Prozentzahlen für B-Zellen fanden als bei den zugehörigen Müttern, allerdings deutlich niedrigere Ig-Spiegel, woraus sie wie ein Jahr später auch L a c a v a et al.[101] den Schluß zogen, daß die B-Lymphozyten zwar zahlreich vorhanden, jedoch noch nicht zu Plasmazellen ausgereift waren. 1973 berichteten B l a n c o et al.[23], daß nach der Geburt zunächst der prozentuale Anteil der B-Zellen abfiel und ab dem 2.Trimenon wieder anstieg; auch sie vermuteten, daß in den ersten 3 Lebensmonaten die Reifung der B-Lymphozyten zu Plasmazellen stattfindet und keine Proliferation der B-Zellen.

1974 erschienen zwei ausführlichere Arbeiten:

G a j l - P e c z a l s k a et al.[62] zeigten anhand von Untersuchungen an 10 Säuglingen, 16 Kindern und 85 Erwachsenen wie auch A u g e n e r [7], daß der prozentuale Anteil der B-Zellen nach dem 1.Lebensjahr praktisch gleich blieb, daß aber die Gesamtheit der B-Lymphozyten von

2.700/mm³ im ersten Jahr über 710/mm³ in der Kindheit auf 530/mm³ bei Erwachsenen zurückging. Angaben über den Verlauf der Gesamt-Lymphozyten-Kurve in diesem Zeitraum fehlen zwar, doch kann man schließen, daß mit Rückgang der Lymphozytenzahl/mm³ bei gleichbleibender B-Zell-Prozentzahl auch der prozentuale Anteil der T-Lymphozyten konstant blieb und ihre absolute Zahl/mm³ rückläufig gewesen sein wird.

U g a z i o et al. [168] fanden ebenfalls konstant bleibende Prozentzahlen, jedoch im Gegensatz zu G a j l - P e c z a l s k a einen Anstieg der absoluten B-Zell-Zahlen in den ersten 6 Monaten von 880/mm³ auf 1.400/mm³ und anschließend einen kontinuierlichen Abfall auf 280/mm³ bei Erwachsenen parallel zum Rückgang der Lymphozytose in der Blutbildformel. Die Unterschiede waren für die Zeit vor dem 7. Lebensjahr gegenüber dem Erwachsenenalter signifikant ($p < 0,01$), jenseits des 7. Jahres nicht mehr. D e l P o z o P e r e z [133] ermittelte einen Anstieg der Prozentzahlen der B-Zellen mit zunehmendem Alter, und zwar bei Männern deutlicher als bei Frauen.

F r ö l a n d und N a t v i g [59], G a j l - P e c z a l s k a [62] und Y u [183] stellten fest, daß Neugeborene relativ mehr Nicht-T-Zellen (B- und O-Zellen) haben als ältere Kinder und Erwachsene, insgesamt haben sie jedoch infolge ihrer Leukozytose und relativen Lymphozytose sowohl mehr T- als auch B- und O-Zellen/mm³ als diese.

Aus unseren Untersuchungen läßt sich Folgendes zur Entwicklung der Lymphozyten im Laufe der Kindheit sagen:

- a) die absoluten Lymphozytenzahlen nehmen unmittelbar nach der Geburt signifikant zu ($p < 0,001$), fallen während des Kindesalters langsam auf die Ausgangswerte zurück und unterschreiten sie im Schulalter wiederum mit deutlicher Signifikanz ($p < 0,001$) wie aus Tab.II sowie den Abb.5, 6, 9 und 13 zu ersehen ist.
- b) bei stets gleichbleibendem prozentuaalem Anteil der rosettenbildenden Zellen verläuft die Kurve der Gesamtheit zirkulierender T-Lymphozyten parallel zu derjenigen der Gesamt-Lymphozyten pro mm^3 . Im Gegensatz zu Matsaniotis [14] beobachteten wir also keine zahlenmäßige Verminderung der T-Zellen bei Neugeborenen und jungen Säuglingen. Da die Säuglinge im Schnitt 1,5-2 mal so viele Lymphozyten/ mm^3 haben als Schulkinder und Erwachsene (s.Tab.II) und sich der Prozentsatz rosettenbildender Zellen nicht ändert, war rein rechnerisch schon zu erwarten, daß sie im Gegenteil mehr T-Zellen pro mm^3 haben müßten als diese. Es zeigte sich dann auch bei unseren Untersuchungen, daß das Verhältnis der T-Lymphozyten vom Säugling zum älteren Kind 1,7-2,3 : 1 beträgt, Säuglinge im ersten Trimenon also durchschnittlich etwa doppelt so viele zirkulierende T-Zellen haben

als Klein- und Schulkinder. Lediglich in der ersten Lebenswoche, solange noch die Granulozyten in der Blutbildformel vorherrschen, liegen die T-Zell-Werte niedriger und entsprechen etwa den Werten der Kleinkinder (siehe Tab.II sowie Abb.5, 6, 9, 12 und 13).

- c) Geschlechtsunterschiede in Bezug auf das Verhalten der Lymphozytenkurven bestehen im Kindesalter nicht.
- d) Die Lymphozytose im Säuglings- und Kleinkindalter beruht auf einer realen Zunahme dieser Zellen und nicht auf einem relativ stärkeren Abfall der Granulozyten im Zuge der postnatalen Leukozytenreduktion (siehe Abb.5, 6, 9 und 13).

3) Diskussion der Ergebnisse bei reifen Neugeborenen,
Frühgeborenen und Mangelgeborenen:

Untersuchungen über die Entwicklung der Immunabwehr im Neugeborenenalter sind von besonderem Interesse wegen der erhöhten Morbidität dieser Altersgruppe in Bezug auf bestimmte bakterielle und virale Infektionen mit nicht selten schwerem septischen Verlauf auch mit Erregern, die für andere Altersklassen als apathogen oder wenig virulent gelten (s.S.9). Ganz besonders gefährdet sind erfah-

rungsgemäß die Frühgeborenen und intrauterin dystrophen Neugeborenen. Diese Schutzlosigkeit, die auch bei Kindern mit Leukosen zu beobachten ist, läßt ein T-Zell-Defizit vermuten, das bei Früh- und Mangelgeborenen noch ausgeprägter ist als bei reifen, eutrophen Neugeborenen.

Aus diesem Grund unterteilten wir die Gruppen 1 und 2 des 1. Trimenon nochmals in je drei Untergruppen (s. Tab. III) und kamen zu folgenden Ergebnissen:

a) Vor dem 7. Lebenstag bestehen keine statistisch signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Leukozyten-, Lymphozyten- und T-Zell-Zahlen pro mm^3 unter reifen Neugeborenen, Mangelgeborenen und Frühgeborenen (Tab. III, Abb. 9).

b) Nach dem 7. Lebenstag ergeben sich lediglich zwei signifikante Unterschiede:

Der prozentuale Anteil rosettenbildender Zellen an der Gesamtheit der Lymphozyten ist mit $65 \pm 6 \%$ bei ehemaligen Frühgeborenen deutlich höher als bei Reifgeborenen mit $57 \pm 14 \%$ ($p < 0,01$). Dagegen haben ehemals reife Neugeborene signifikant mehr Leukozyten ($10.250 \pm 2.560/\text{mm}^3$) als ehemalige Frühgeborene ($8.590 \pm 2.870/\text{mm}^3$) ($p < 0,01$). Die Werte ehemaliger Mangelgeborener liegen zwischen denjenigen der Neu- und Frühgeborenen und unterscheiden sich rechnerisch nicht relevant von ihnen. Alle übrigen Ergebnisse

(Lymphozyten/mm³, T-Zellen/mm³) unterscheiden sich nicht signifikant unter ehemaligen Neu-, Früh- und Mangelgeborenen (Abb.9, Tab.III).

- c) Vergleicht man gesondert bei Neu-, Früh- und Mangelgeborenen jeweils die Ergebnisse vor und nach dem 7.Lebenstag, so zeigt sich Folgendes:

Nur die Neugeborenen zeigen einen signifikanten Anstieg der Lymphozyten von $4.290 \pm 1.440/\text{mm}^3$ auf $5.910 \pm 1.610/\text{mm}^3$ ($p < 0,001$) und einen eindeutigen Anstieg des prozentualen Anteiles der Lymphozyten im Differentialblutbild von $45 \pm 15\%$ auf $60 \pm 13\%$ ($p < 0,001$). Umso erstaunlicher ist, daß gerade bei ihnen die Zunahme der T-Zellen nach dem 7.Lebenstag am wenigsten signifikant ist mit $p < 0,05$ gegenüber den Früh- und Mangelgeborenen (p jeweils $< 0,01$). Mit anderen Worten: die Neugeborenen zeigen nach dem 7.Lebenstag zwar den deutlichsten Anstieg der Gesamtlymphozyten pro mm³, darunter scheinen aber relativ wenige T-Zellen zu sein, denn ihre Zunahme ist rechnerisch nicht relevant. Es muß offen bleiben, ob aus der Tatsache, daß dem signifikanten Lymphozytenanstieg der reifen Neugeborenen kein so erheblicher Anstieg der T-Zellen folgt wie bei Früh- und Mangelgeborenen, der Schluß gezogen werden kann, daß jene zu dem Zeitpunkt entweder mehr B- oder mehr O-Zellen haben als diese. Daß die O-Zellen im Neugeborenenalter mit 13-45% vermehrt sind gegenüber 3-16% bei Erwachsenen,

wurde bereits von Dybkjaer et al.[47] mitgeteilt.

Die Frühgeborenen zeigen weder einen signifikanten Leukozyten- noch einen deutlichen Lymphozyten-Anstieg jenseits der ersten Lebenswoche ($p > 0,8$ bzw. $p = 0,1$). Sie haben jedoch als einzige eine deutliche Zunahme des Prozentsatzes rosettenbildender Zellen ($p < 0,02$) und erreichen so eine statistisch relevante Zunahme der T-Lymphozyten pro mm^3 nach dem 7.Lebenstag von $2.350 \pm 1.230/\text{mm}^3$ auf $3.670 \pm 1.420/\text{mm}^3$ ($p < 0,01$). Auch bei den Mangelgeborenen ist der Anstieg der T-Zellen pro mm^3 jenseits des 7.Lebentages signifikant ($p < 0,01$) ; dennoch ist ihr T-Zell-Pool im Endergebnis ebenso wenig wie derjenige der Frühgeborenen größer als derjenige der reifen, eutrophen Neugeborenen ($p > 0,4$).

Es hat uns verwundert, daß die Mangelgeborenen ebensoviele T-Zellen pro mm^3 aufweisen wie die reifen, eutrophen Neugeborenen; wir hatten bei ihnen ein T-Zell-Defizit erwartet. Aus der Literatur wissen wir, daß die perinatale Infektanfälligkeit in der Gruppe der "small for dates" signifikant ($p < 0,001$) höher ist als bei Frühgeborenen gleichen Gestationsalters [126]. Es ist ferner bekannt, daß Eiweißmangel zu einer Erhöhung des Cortisol-Spiegels führt [136,144] und daß hieraus eine Depression des thymo-

lymphatischen Systems resultieren kann [45,144,152,157, 184]. Folglich berichteten auch C h a n d r a [35] und F e r g u s o n et al.[54] über signifikant niedrigere T-Zell-Prozentzahlen bei 10 Mangelgeborenen im Alter von 1-10 Tagen im Vergleich zu 10 Neu- und Frühgeborenen gleichen Alters ($p < 0,001$). Eine Korrelation zwischen Geburtsgewicht und Rosettenzahl bestand bei den Früh- und Mangelgeborenen nicht, die niedrigeren Werte der dystrophischen Neugeborenen beruhten also offensichtlich allein auf dem intrauterin erlittenen Mangel.

Es ist allerdings anzumerken, daß das mittlere Geburtsgewicht bei den von F e r g u s o n untersuchten Kindern wesentlich niedriger lag (Neu- und Frühgeborene 2.000 g ; Mangelgeborene 1.660 g) als bei unseren Kindern (s.S.17). Die Dystrophie war also bei den von uns untersuchten "small for dates" möglicherweise nicht so ausgeprägt, daß signifikante Unterschiede zu den Ergebnissen der eutrophen Neugeborenen deutlich werden konnten.

Cortisol soll nicht nur zu einer Atrophie lymphatischer Gewebe führen unter Bevorzugung des T-Zell-Apparates [53, 157,184] infolge einer Hemmung der Mitoseaktivitäten der Stammzellen [38], sondern daneben durch Inhibition der DNS-RNS-Synthese die Lymphozytentransformation verzögern[45, 144]. Die unter Cortisol-Einfluß nur schwach ablaufende Lymphozytentransformation nach unspezifischen mitogenen Stimuli konnte experimentell bewiesen werden [34,150,157]. Daß gerade in Stress-Situationen bei mangelernährten Kin-

dern der Cortisol-Spiegel steigt, berichteten P a i s -
l e y et al.[124].

Weshalb Eiweißmangel zu einer Abwehrschwäche führt, ist bisher nicht vollständig geklärt. Neben der Erhöhung des Cortisol-Spiegels werden diskutiert: Minderung der Aminosäuren und folglich Mangel an Lysosomen, woraus beeinträchtigte Bakterizidie und Phagozytose der polymorphkernigen Leukozyten resultieren [151], Mangel an Komplement-Faktoren [151,154] und Pyridoxin-Mangel, der eine zahlenmäßige Reduzierung der T-Zellen bewirken könnte [39]. Ferner sind in der α_1 -Fraktion Opsonine enthalten [71], die bei Eiweißmangel vermindert sein könnten und von deren Vorhandensein die Funktionsfähigkeit der Makrophagen abhängt.

Auch bei Vergleich der Leukozytenzahlen/mm³ unter den von uns untersuchten Neu-, Früh- und Mangelgeborenen wurde nur ein einziger statistisch signifikanter Unterschied erhoben ($p < 0,01$) : jenseits des 7.Lebenstages haben eutrophe Neugeborene deutlich mehr Leukozyten pro mm³ im peripheren Blut als Frühgeborene ($10.250 \pm 2.560/\text{mm}^3$ bzw. $8.590 \pm 2.870/\text{mm}^3$). Angaben in der Literatur fanden wir hierzu nicht außer einer Bemerkung von T u r [167], daß Frühgeborene äußerst große Schwankungsbreiten in ihren Leukozytenzahlen/mm³ zeigen ($3.600 - 36.000/\text{mm}^3$), insgesamt gesehen aber eher eine geringere Leukozytose jedoch ausgeprägtere relative Lymphozytose haben als die reifen Neugeborenen; T u r merkt allerdings an, daß etliche Autoren zu anderen Resultaten gelangten. Ferner teilt er die Beobachtung mit, daß Frühgeborene oftmals bei Geburt bereits derart hohe Lymphozytenwerte aufweisen, daß die 1.Lymphozytenkreuzung gar nicht oder aber früher stattfindet als bei reifen Neugeborenen.

Auch wir stellten fest, daß sich die prozentualen Lymphozytenwerte vor und nach dem 7. Lebenstag bei den Neu- und auch bei den Mangelgeborenen signifikant voneinander unterscheiden ($p < 0,001$), nicht dagegen bei den Frühgeborenen ($p < 0,02$). Die Abb. 7 und Tab. III zeigen, daß die Frühgeborenen bereits vor dem 7. Tag im Durchschnitt eine relative Lymphozytose von 53% im peripheren Blutbild sowie eine vorzeitige Umkehrung der Granulo-Lymphozyten-Relation um den 4./5. Lebenstag zeigen.

Zusammenfassend können wir also zu den von uns für die Perinatalperiode erhobenen Befunde sagen, daß unabhängig von Reifegrad und intrauterinem Ernährungszustand alle untersuchten Säuglinge einen signifikanten Anstieg der Gesamt-Lymphozyten und der T-Zellen unmittelbar nach der Geburt zeigen und somit die Erklärung für die perinatal erhöhte Morbidität weder bei reifen, eutrophen Neu- noch bei Früh- und Mangelgeborenen in dem quantitativen Verhalten der T-Lymphozyten zu finden ist. Überhaupt ist eine Beurteilung des immunkompetenten Lymphozytenpools praktisch nicht möglich, ganz besonders auch im Hinblick auf die T-Zellen, da jeweils nur ca. 5% der vorhandenen Zellen zirkulieren, während sich der überwiegende Teil in den Speichern (Milz, Lymphknoten) aufhält [165].

4) Der derzeitige Stand der Kenntnisse über die
Immunkompetenz im frühen Säuglingsalter

Es ist bekannt, daß im 1. Trimenon ein Immunglobulinmangel herrscht trotz normaler B-Zell-Werte pro mm³ bei jungen Säuglingen im Vergleich zu älteren Kindern und Erwachsenen; d.h., daß die entsprechenden Lymphozytenpopulationen zahlenmäßig zwar normal vorhanden, funktionell jedoch noch nicht ausgereift sind [168].

Analog hierzu wäre es denkbar, daß auch andere Komponenten des Immunsystems perinatal unreif sein könnten und es sich auch bei ihnen um "werdende" Funktionen handelt. Die Frage nach der Immunkompetenz kann, wie die Ergebnisse dieser Arbeit gezeigt haben, sicher nicht allein durch quantitative Bestimmung der an der Immunantwort beteiligten Parameter beantwortet werden, da zahlenmäßig normales Vorhandensein bestimmter Zellarten noch nicht auch ihre funktionelle Reife beinhaltet.

Morphologisch finden sich bereits Unterschiede zwischen den Lymphozyten Neugeborener und Erwachsener: so beschrieb K a t o [93] bereits 1935, daß die Lymphozyten Neugeborener eine Zwischenstellung einnehmen zwischen Lymphoblasten und ausgereiften Lymphozyten was ihren Chromatingehalt, die Nukleolen und das Plasma betrifft. W i n t e r et al. [174] verglichen 1965 ebenfalls die Lymphozyten Neugeborener und Erwachsener und stellten

fest, daß postnatal 95% der Lymphozyten eine hohe Kern-Zytoplasma-Relation haben gegenüber nur 75% bei Erwachsenen; ferner sind 14% der Kerne der Lymphozyten Neugeborener gegenüber nur 7% bei Erwachsenen leptochromatisch als Zeichen dafür, daß es sich um reifende Zellen handelt. Entsprechend sind RNS-Umsatz und DNS-Synthese der Lymphozyten postnatal signifikant gesteigert ($p < 0,001$), wiederum ein Beweis dafür, daß die Lymphozyten Neugeborener eine Stellung einnehmen zwischen den im mittleren Foetalalter zu findenden und den ausgereiften [174].

Es liegen inzwischen zahlreiche Untersuchungen vor über die Entwicklung der unspezifischen und der spezifischen Immunität. Betrachtet man den Ablauf der Immunantwort (s.S.3) noch einmal im Hinblick auf die beim Neugeborenen untersuchten Parameter, so zeigt sich folgender derzeitiger Wissensstand :

Inwieweit die T-Zelle des Neugeborenen in der Lage ist, ein Antigen zu erkennen und den entsprechenden Antigen-spezifischen Antikörper zu bilden, ist unbekannt und sicher auch von der Art des Antigen abhängig [71].

Selbst wenn sie das kann, besteht ferner die Möglichkeit, daß die nun folgende Blastentransformation und die Proliferation zu immunkompetenten effector- und memory-cells verzögert ablaufen.

Weiter wäre denkbar, daß die Sekretion von Mediatorstoffen vermindert und infolgedessen z.B. Monozytenmigration

sowie Aktivierung der Monozyten zu Makrophagen beeinträchtigt sind. Daß die Monozytenmigration in der Tat bei Neugeborenen herabgesetzt ist, konnte von B u l l o c k et al.[32] bewiesen werden.

Die Interferon-Sekretion scheint in normalem Umfang abzulaufen [71].

Nach Untersuchungen von E i f e et al.[49,50] sowie M c C o n n a c h i e [108] und X a n t h o u [182] sind Lymphotoxin-Produktion und zytolytische Funktionen bei Neugeborenen erheblich vermindert bis auf 40 % der bei Erwachsenen erhobenen Werte.

Ferner läuft die Immunreaktion vom Spättyp, auslösbar z.B. durch Sensibilisierung mit Dinitrofluorobenzen, bei Neugeborenen nur äußerst schwach und langsam ab [71, 157], während die graft-versus-host - Reaktion normal ist [71].

Die in vitro-Antwort auf Mitogenstimulation (PHA oder allogene Zellen) wird von den meisten Autoren als normal oder gar verstärkt ablaufend beschrieben [49,50,54,71, 116], lediglich M c C o n n a c h i e [108] sah sie abgeschwächt.

Daß die Serumspiegel chemotaktischer Stoffe bei Neugeborenen zwar normal hoch sind, die chemotaktische Aktivität dagegen vermindert, konnte bewiesen werden; der entsprechende Defekt muß jedoch nicht unbedingt in den T-Zellen zu suchen sein, sondern kann auch in den Granulozyten liegen, bei denen es Anzeichen dafür gibt, daß sie post-

natal funktionell unzureichend entwickelt sind [44,71], woraus sich eine Beeinträchtigung des zweiten Schrittes der Immunantwort, der Phagozytose, ergibt :

Hier sind an erster Stelle die Unzulänglichkeiten im Komplement-System zu nennen : G o t o f f [71] fand zwar Normalwerte für die Komponenten C_{1-4} und damit normale Bakterizidie und Immunadhärenz, jedoch Verminderung der Anteile C_{5-9} , woraus herabgesetzte Chemotaxis und Phagozytose resultieren. Zu gleichen Ergebnissen kamen bei Untersuchungen der Polymorphkernigen Neugeborener auch F i r e m a n [55] und X a n t h o u [182].

Aus einer Störung im Komplement-System wiederum ergibt sich eine Minderung der Komplement-abhängigen Opsonisierungsaktivität und zwar abhängig vom Gestationsalter [113, 182]; zusätzlich sind postnatal diejenigen Opsonine reduziert, die in der IgM-Fraktion laufen [71,117] und insbesondere für den Angriff gramnegativer Erreger zuständig sind [44,77]. Hier könnte eine der Ursachen für die Häufung von Coli-Infektionen bei Neu- und Frühgeborenen liegen. D o s s e t t [44] empfiehlt daher zur Behandlung Neugeborener die Gabe von Erwachsenen-Plasma, durch das opsonisierende Antikörper übertragen werden, und H a f e r - k a m p e t al.[78] berichteten über Therapieerfolge mit Frischplasma-Transfusionen bei Patienten mit Komplement-abhängigen Funktionsstörungen der Granulozyten. Die Komplement-unabhängige Funktionsfähigkeit der killer-

-cells Neugeborener zeigt sich in normaler Fähigkeit zur Verteidigung des Wirtsorganismus gegenüber Fremdantigenen (Transplantat-Abstoßung, Limitierung von Tumorstadium) [86] und in normaler Stimulierbarkeit der T-Lymphozyten durch allogene Zellen [71].

Aus dem Referierten (verzögerte Antigen-Erkennung, verminderte Chemotaxis, gehemmte Monozytenmigration zur Bekämpfung der Infektion am Entstehungsort sowie schließlich reduzierte Opsonisierung und damit "Zubereitung" zur Phagozytose) erklärt sich, weshalb Lokalisierung und Verhinderung der Generalisation einer Infektion im Neugeborenenalter erschwert [113] sowie Candidazidie, Bakterizidie [182] und Phagozytose [71,113] häufig insuffizient sind trotz der im Vergleich zu anderen Altersstufen relativ hohen Monozytose [93] und allgemein erhöhter Aktivitäten des RES [71].

Die erhöhte Anfälligkeit Neu- und Frühgeborener für schwere Allgemeininfektionen scheint also auf diversen Funktionsschwächen zu beruhen sowohl in den spezifischen als auch in den unspezifischen humoralen und zellulären Abwehrmechanismen sowie auf Unzulänglichkeiten ihrer Interaktionen. Die Tatsache, daß in der Perinatalzeit häufig schwere Verlaufsformen bei Erkrankungen mit Herpes-, Röteln-, Zytomegalie-, Toxoplasmose- und Listeriose - Erregern zu beobachten sind und die Neugeborenen

dabei über lange Zeit eine Virämie aufweisen trotz hoher Antikörpertiter (D o s s e t t [44] spricht von sog."split tolerance"), ist ein Hinweis darauf, daß neben mangelhaft entwickeltem Komplement-System gerade die zellulären Abwehrmechanismen schwach entwickelt sind, deren essentielles Element der T-Lymphozyt ist mit den von ihm sezernierten Mediatoren. D u t z et al.[46] stellten fest, daß die T-Zell-Funktionen erst nach dem 6.Lebensmonat vollständig ausgereift sind und daß Stress-Situationen vor diesem Zeitpunkt zu einer anhaltenden Insuffizienz der zellulären Immunität und infolgedessen auch zu gehäuftem und frühzeitigem Auftreten von Malignomen führen.

Daß Neugeborene relativ mehr Null-Zellen haben, bei denen es sich um noch nicht immunkompetente Vorstufen der T- und B-Lymphozyten handelt, wurde bereits erwähnt (S.79). Über die Funktionsfähigkeit der übrigen Lymphozytenpopulationen liegen nur ungenügende Kenntnisse vor.

Es scheinen also zusammengefaßt folgende Faktoren für die unzureichende Immunantwort bei Neugeborenen verantwortlich zu sein :

- a) in der afferenten Phase fraglich normale Antigen-Erkennung und -Bindung durch die T-Zelle bei normaler Transformationsfähigkeit.
- b) in der zentralen Phase mangelnde Kooperation der zellulären und humoralen Immunreaktionen durch Mängel im Komplement-System (Stimulierbarkeit der T-Zellen

durch allogene Zellen sowie die graft-versus-host - Reaktion, die beide Komplement-unabhängig sind, laufen dagegen normal ab).

- c) in der efferenten Phase (Antigen-Elimination bzw. -Neutralisation) durch Unreife der B-Zellen verminderte Ig-Produktion, durch Unreife der T-Lymphozyten verminderte Lymphotoxin-Produktion, durch C_{5-9} -Defizit gestörte Chemotaxis, Opsonisierung und schließlich unzureichende oder fehlende Phagozytose-Aktivität.

Je nach Art des Antigen und den Abwehrmaßnahmen, die es erfordert, kann das Neugeborene fähig sein, mit der Infektion fertig zu werden oder nicht : es gibt Antigene, die durch direkten Kontakt mit der T-Zelle bereits beseitigt werden können, und es gibt andere, die durch Mediatorstoffe (Lymphotoxine) unschädlich gemacht werden; wieder andere können dagegen nur bei intaktem Komplement-System und/oder Makrophagen- sowie B-Zell-Beteiligung verarbeitet werden [38]. Möglicherweise ist das Neugeborene zu diesen letzteren, komplexen Abwehrmechanismen nur beschränkt fähig.

Es gibt also noch zahlreiche Unbekannte im Bereich der immunologischen Überwachung und Abwehr gegen Infektionen und Tumorproliferation. Die Klärung dieser Unbekannten, unter anderem vollständigere Kenntnisse über die T-Lymphozyten, werden ganz sicher zu neuen und erfolg-

reicherer therapeutischen Ansatzpunkten in der Infektions- und Tumorbekämpfung führen, denen in der Pädiatrie große Bedeutung zukommt. So könnte es z.B. in Zukunft möglich werden, spezifisch gegen eine bestimmte Lymphozytenklasse gerichtete Anti-Seren zu entwickeln [86] : gegen killer-cells für die Transplantationsmedizin, gegen entartete Lymphozyten bei den verschiedenen, meist monoklonalen Leukose-Typen und zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten. Zelluläre Immundefekte, seien es angeborene oder im Zuge immunsuppressiver Therapie erworbene, mögen eines Tages durch Transfusion der entsprechenden Zellpopulation zu beheben sein. Solange diese Möglichkeiten noch nicht gegeben sind, muß man sich noch mit Transplantationen von Knochenmark oder fetalem Thymusgewebe bzw. mit Injektion von Transferfaktor zur Stimulierung der zellulären Abwehr behelfen [15,22,38,44,73,118,119,121,123,138].

C: Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Lymphozyten, die einen essentiellen Faktor der Immunabwehr darstellen, rückten im letzten Jahrzehnt mehr und mehr in den Mittelpunkt des Interesses der Immunologen und Pädiater.

Unter den zahlreichen Methoden, mit deren Hilfe die Subpopulationen (T-, B- und O-Zellen) differenziert werden können, hat insbesondere der sog. E-Rosettentest oder Spontanrosettentest zur Identifizierung und Zählung der thymusabhängigen T-Lymphozyten weite Verbreitung gefunden.

Ziel dieser Arbeit war es, unter kritischer Beurteilung der verschiedenen Rosetten-Techniken(1) die Besonderheiten der Lymphopoese im Kindesalter(2) darzustellen.

Ad 1) Methodische Differenzen bei der Durchführung des E-Rosettentests bedingen in der Literatur Schwankungen in den Zahlenangaben für rosettenbildende Zellen im peripheren Blut zwischen 30% und 80%. In Ermangelung einer standardisierten Methode führen die Labors den Test auf die unterschiedlichste Art und Weise durch: die vorlie-

gende Arbeit gibt detailliert eine Synopse der verschiedenen Techniken und ihrer Fehlerquellen.

Wir selbst führen den E-Rosettentest im Wesentlichen nach dem von J o n d a l et al.[91] beschriebenen Verfahren durch. Sofern der Test unter stets gleichbleibenden Bedingungen praktiziert wird, ist die methodische Streuung mit einem Variationskoeffizienten von 1,6% gering. Der Mittelwert für die Prozentzahlen rosettenbildender Zellen im peripheren Blut bei den von uns untersuchten 263 Kindern im Alter vom 2.Lebenstag bis zum 15.Lebensjahr liegt bei 55,6 %. Dieses Resultat stimmt überein mit den in der Literatur angegebenen Werten, die mithilfe anderer Untersuchungsmethoden wie Elektronenmikroskopie und Immunfluoreszenz [132,164,169] ermittelt wurden. Im Vergleich zu den letztgenannten ist der Rosettentest weniger aufwendig und kann in jedem Kliniklabor durchgeführt werden.

Der Nachteil des E-Rosettentests in der derzeit üblichen Form ist darin zu sehen, daß eine Mikromethode zur Zählung der T-Zellen aus Kapillarblut [31] noch nicht ausgereift ist und folglich auch von kleinen Frühgeborenen ca.4 ml hämolysefreies, ungerinnbares Venenblut entnommen werden müssen.

Ferner wäre es günstiger, den Rosettentest unter Umgehung der Prozeduren der Lymphozytenseparation direkt aus dem

Nativ-Vollblut bestimmen zu können, da die Lymphozyten-Isolierungsverfahren die Gefahr einer artefiziellen Verfälschung der T/B-Relation beinhalten; doch auch ein derartiges Verfahren steht noch nicht auf festem Fuß [27,31]. Schließlich steht die Frage noch offen, ob nicht der sog. "aktive" Rosettentest [179,181] ein zutreffenderes Bild von der Größenordnung des Pools immunkompetenter zirkulierender T-Zellen gibt.

Ad 2) Bekanntlich finden in der Neonatalperiode und zu Beginn des Schulalters zwei sog. "Lymphozytenkreuzungen" statt, bei denen sich die Granulo-Lymphozyten - Relation ändert. Nach unseren Untersuchungen liegt übereinstimmend mit mehreren anderen Autoren [93,166] die erste Lymphozytenkreuzung um den 6./7. Lebenstag, die zweite um das 6./7. Lebensjahr.

Ferner interessierte uns die Frage, ob zu den Zeitpunkten der Lymphozytenkreuzungen Änderungen in der Zusammensetzung des Lymphozytenpools stattfinden, ob sich also die T/B-Relation ändert, insbesondere in der Neonatalperiode, da bekanntlich Neugeborene in weit höherem Maße anfällig sind für schwere Allgemeininfektionen als ältere Kinder, sodaß bei ihnen ein T-Zell-Defizit vermutet werden konnte.

Zur Klärung dieser Fragen führten wir den E-Rosettentest bei 263 Kindern aller Alters- und Reifestufen durch

und gelangten zu folgenden Resultaten :

- a) Lymphozyten pro mm^3 und Lymphozytose im Differentialblutbild :

In der ersten Lebenswoche überwiegen im peripheren Blut die Granulozyten mit durchschnittlich 52%, jenseits des 7. Lebensstages herrschen im Differentialblutbild die Lymphozyten vor mit durchschnittlich 62%. Diese relative Lymphozytose entsteht nicht etwa infolge einer nur relativen Zunahme der Lymphozyten bei überwiegender Abnahme der Granulozytenzahl im Rahmen der postnatalen Leukozytenreduktion, sondern beruht auf einer realen Lymphopoese wie der signifikante Anstieg der absoluten Lymphozytenzahl pro mm^3 zeigt.

Zum Zeitpunkt der 2. Lymphozytenkreuzung um das 6./7. Lebensjahr nehmen wieder die Granulozyten den ersten Rang in der Blutbildformel ein mit durchschnittlich 56%, beruhend auf einem realen Rückgang der Lymphopoese.

Die Zahl der zirkulierenden Lymphozyten nimmt in den ersten Lebenstagen rasch zu, erreicht ihr Maximum in der Säuglingszeit und fällt dann kontinuierlich wieder ab. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Altersstufen sind statistisch signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1% ($p < 0,001$). In der ersten

Lebenswoche beträgt der Mittelwert für die Lymphozyten $4.170 \pm 1.520/\text{mm}^3$, steigt bis zum Ende des ersten Trimenon an auf $5.770 \pm 1.940/\text{mm}^3$ und fällt danach ab über $4.400 \pm 1.920/\text{mm}^3$ beim Kleinkind auf $2.870 \pm 990/\text{mm}^3$ im Schulalter.

b) Prozentsatz rosettenbildender Zellen :

Im Mittel bilden 55,6 % der Lymphozyten des peripheren Blutes mit Schaferythrozyten Spontanrosetten. Die Unterschiede zwischen den Mittelwerten der einzelnen Altersstufen sind rechnerisch nicht relevant. Der im Laufe der Kindheit konstantbleibende Prozentsatz rosettenbildender Lymphozyten zeigt an, daß sowohl die Zunahme der Lymphozytenzahl pro mm^3 jenseits der ersten Lebenswoche als auch ihr Absinken jenseits des 6./7. Lebensjahres nicht auf der isolierten Zu- bzw. Abnahme der T-Lymphozyten beruhen, sondern daß T- und Nicht-T - Zellen zu gleichen Teilen daran beteiligt sind.

c) T-Lymphozyten pro mm^3 :

Vergleicht man die T-Zell-Werte in der ersten Lebenswoche mit denen jenseits des 7. Lebensstages, so besteht in der Neonatalzeit ein T-Zell-Defizit ($2.500 \pm 1.100/\text{mm}^3$ versus $3.490 \pm 1.230/\text{mm}^3$; $p < 0,001$), dies umso mehr, wenn man berücksichtigt, daß die Lymphozyten des Neugeborenen funktionell noch nicht aus-

gereift sind.

Verglichen mit Klein- und Schulkindern jedoch haben die Neugeborenen keinesfalls ein quantitatives T-Zell-Defizit, sondern im Gegenteil mehr zirkulierende rosettenbildende Lymphozyten pro mm^3 als jene ($2.500 \pm 1.100/\text{mm}^3$ gegenüber 2.210 ± 900 bzw. $1.490 \pm 630/\text{mm}^3$). Die erhöhte Anfälligkeit Neugeborener gegenüber Infektionen, zu deren Abwehr der spezifischen zellulären Immunantwort in Form der T-Lymphozyten besondere Bedeutung zukommt, beruht also offenbar nicht auf einem quantitativen, sondern eher auf einem qualitativen T-Zell-Mangel.

- d) Besonderheiten Früh- und Mangelgeborener im Vergleich zu reifen, eutrophen Neugeborenen :

In der ersten Lebenswoche unterscheiden sich die Ergebnisse Früh- und Mangelgeborener in keiner Hinsicht von denjenigen reifer Neugeborener.

Jenseits des 7. Lebenstages liegen die Leukozytenzahlen der Frühgeborenen signifikant niedriger als diejenigen reifer Neugeborener ($8.590 \pm 2.870/\text{mm}^3$ versus $10.250 \pm 2.560/\text{mm}^3$; $p < 0,01$). Dagegen liegt der Prozentsatz rosettenbildender Zellen bei Frühgeborenen mit 65 ± 6 % signifikant über demjenigen der reifen Neugeborenen mit 57 ± 14 % ($p < 0,01$), sodaß sich im Endeffekt die absoluten T-Zell-Zahlen pro mm^3 stati-

stisch nicht unterscheiden ($3.410 \pm 1.260/\text{mm}^3$ versus $3.670 \pm 1.420/\text{mm}^3$; $p > 0,4$).

Die Resultate der Mangelgeborenen liegen zwischen denjenigen der reifen Neugeborenen einerseits und der Frühgeborenen andererseits und unterscheiden sich rechnerisch nicht relevant von ihnen.

e) Geschlechtsunterschiede :

Weder in Bezug auf den Prozentsatz rosettenbildender Zellen im peripheren Blut (Jungen: 48 ± 15 % ; Mädchen: 50 ± 15 % ; $p > 0,8$) noch im Hinblick auf die absoluten T-Zell-Zahlen (Jungen: $1.730 \pm 770/\text{mm}^3$; Mädchen: $2.050 \pm 870/\text{mm}^3$; $p > 0,5$) bestehen Unterschiede zwischen den Geschlechtern im Kindesalter.

Den Abschluß der Arbeit bilden ein kurzer Abriß über den Ablauf der Immunantwort des Organismus mit dem Zusammenspiel spezifischer und unspezifischer zellulärer und humoraler Mechanismen sowie ein Überblick über den derzeitigen Wissensstand um die Funktionsfähigkeit einzelner Faktoren der Immunabwehr in der Neonatalperiode.

Tab.I :

- a) zahlenmäßiger (und prozentualer) Anteil der reifen, eutrophen Neu-, der Früh- und der Mangelgeborenen in den Gruppen 1 und 2.

n = 159

	reife Neugeborene	Frühgeborene	Mangelgeborene
Gruppe 1: 1.-6. Lebenstag (n = 50)	22 (= 44%)	14 (= 28%)	14 (= 28%)
Gruppe 2: 7. Lebenstag bis Ende des 1. Trimenon (n = 109)	52 (= 47,7%)	27 (= 24,8%)	30 (= 27,5%)

- b) Geschlechtsverteilung in den Gruppen 3 und 4.

n = 104

	Jungen	Mädchen
Gruppe 3: 2. Trimenon bis incl. 6. Lebensjahr (n = 46)	19 (= 41,3%)	27 (= 58,7%)
Gruppe 4: 7.-15. Lebensjahr (n = 58)	34 (= 58,6%)	24 (= 41,4%)

Tab. II :

Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) aus 263 Einzeluntersuchungen im Kindesalter.

Gruppe 1: 2.-6. Lebenstag

Gruppe 2: 7. Lebenstag - Ende des 1. Trimenon

Gruppe 3: 2. Trimenon- Incl. 6. Lebensjahr

Gruppe 4: 7. - 15. Lebensjahr

n = Anzahl der untersuchten Kinder

	Leuko/mm ²	Lympho/mm ³	Ly %	Kos %	Ros/mm ³	n
Gruppe 1	9.200 $\pm$ 3.660	4.170 $\pm$ 1.520	48 $\pm$ 15	58 $\pm$ 20	2.500 $\pm$ 1.100	50
Gruppe 2	9.560 $\pm$ 2.760	5.770 $\pm$ 1.940	62 $\pm$ 10	61 $\pm$ 12	3.490 $\pm$ 1.230	109
Gruppe 3						
Gesamt	7.500 $\pm$ 2.290	4.400 $\pm$ 1.920	53 $\pm$ 16	52 $\pm$ 12	2.210 $\pm$ 900	46
Jungen	7.620 $\pm$ 2.790	4.650 $\pm$ 2.030	61 $\pm$ 15	51 $\pm$ 15	2.280 $\pm$ 890	19
Mädchen	7.410 $\pm$ 1.930	4.160 $\pm$ 1.810	56 $\pm$ 16	52 $\pm$ 12	2.130 $\pm$ 910	27
Gruppe 4						
Gesamt	6.320 $\pm$ 2.960	2.670 $\pm$ 990	44 $\pm$ 12	52 $\pm$ 14	1.490 $\pm$ 630	53
Jungen	7.050 $\pm$ 3.050	3.000 $\pm$ 950	41 $\pm$ 13	53 $\pm$ 12	1.500 $\pm$ 610	34
Mädchen	6.490 $\pm$ 2.770	2.340 $\pm$ 1.020	47 $\pm$ 10	51 $\pm$ 17	1.480 $\pm$ 640	24

Tab.III :
 Vergleichende Gegenüberstellung der bei reifen, eutrophen Neugeborenen, Frühgeborenen
 und Mangelgeborenen erhobenen Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$).
 n = 159 [Erläuterungen der Abkürzungen s.Tab.I]

		Leuko/mm ³	Lympho/mm ³	Ly %	Ros %	Ros/mm ³	n
Gruppe 1 vor 7. Le- benstag	gesamt	9.200 $\pm$ 3.660	4.170 $\pm$ 1.520	48 $\pm$ 15	58 $\pm$ 20	2.500 $\pm$ 1.100	50
	Neugeb.	10.120 $\pm$ 3.470	4.290 $\pm$ 1.440	45 $\pm$ 15	59 $\pm$ 28	2.700 $\pm$ 1.040	22
	Frühgeb.	8.340 $\pm$ 3.660	4.230 $\pm$ 1.850	53 $\pm$ 16	56 $\pm$ 15	2.350 $\pm$ 1.230	14
	Mangelgeb.	8.670 $\pm$ 3.900	3.930 $\pm$ 1.360	50 $\pm$ 15	61 $\pm$ 10	2.320 $\pm$ 1.080	14
Gruppe 2 nach 7. Le- benstag	gesamt	9.650 $\pm$ 2.760	5.770 $\pm$ 1.940	62 $\pm$ 10	61 $\pm$ 12	3.490 $\pm$ 1.230	109
	Neugeb.	10.250 $\pm$ 2.560	5.910 $\pm$ 1.610	60 $\pm$ 13	57 $\pm$ 14	3.410 $\pm$ 1.260	52
	Frühgeb.	8.590 $\pm$ 2.870	5.640 $\pm$ 2.610	66 $\pm$ 15	65 $\pm$ 6	3.670 $\pm$ 1.420	27
	Mangelgeb.	9.220 $\pm$ 2.750	5.350 $\pm$ 1.790	62 $\pm$ 11	62 $\pm$ 11	3.470 $\pm$ 1.320	30

Tab.IV :

Ergebnisse der Längsschnitt-Untersuchungen
an 10 Säuglingen vor und nach dem 7. Lebenstag

($\bar{x} \pm s$) [Erläuterung der Abkürzungen s.Tab.I]

	vor 7.Lebenstag	nach 7.Lebenstag	t p
n	10	10	
Ros %	59 $\pm$ 17	66 $\pm$ 9	t = 1,076 p > 0,2
Lympho/mm ³	4.160 $\pm$ 1.630	5.830 $\pm$ 1.700	t = 2,237 p < 0,05
Ros/mm ³	2.545 $\pm$ 1.390	3.865 $\pm$ 1.340	t = 2,167 p < 0,05
Ly %	46 $\pm$ 15	62 $\pm$ 9	t = 3,009 p < 0,01
Leuko/mm ³	10.000 $\pm$ 4.650	9.640 $\pm$ 3.580	nicht be- rechnet

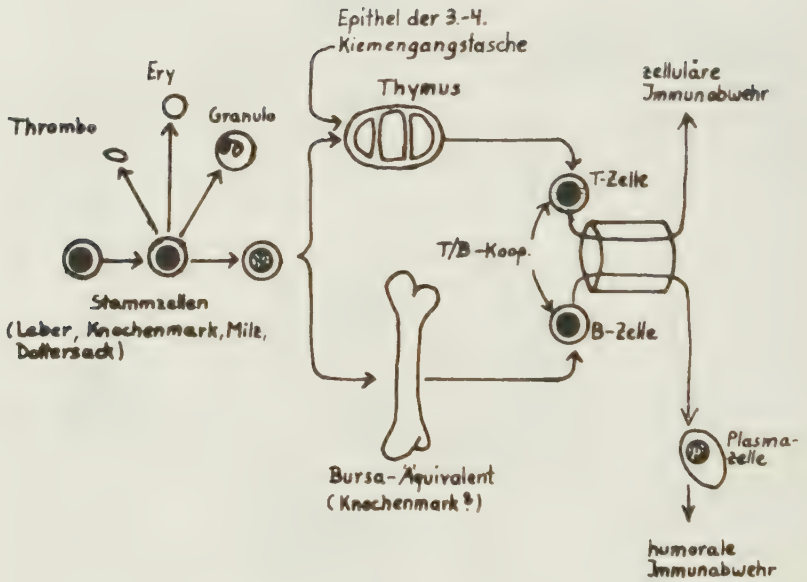


Abb.2 : Ursprung, Prägung und Aufgabenbereiche der T- und B-Lymphozyten.

(nach Kersey et al.[97])

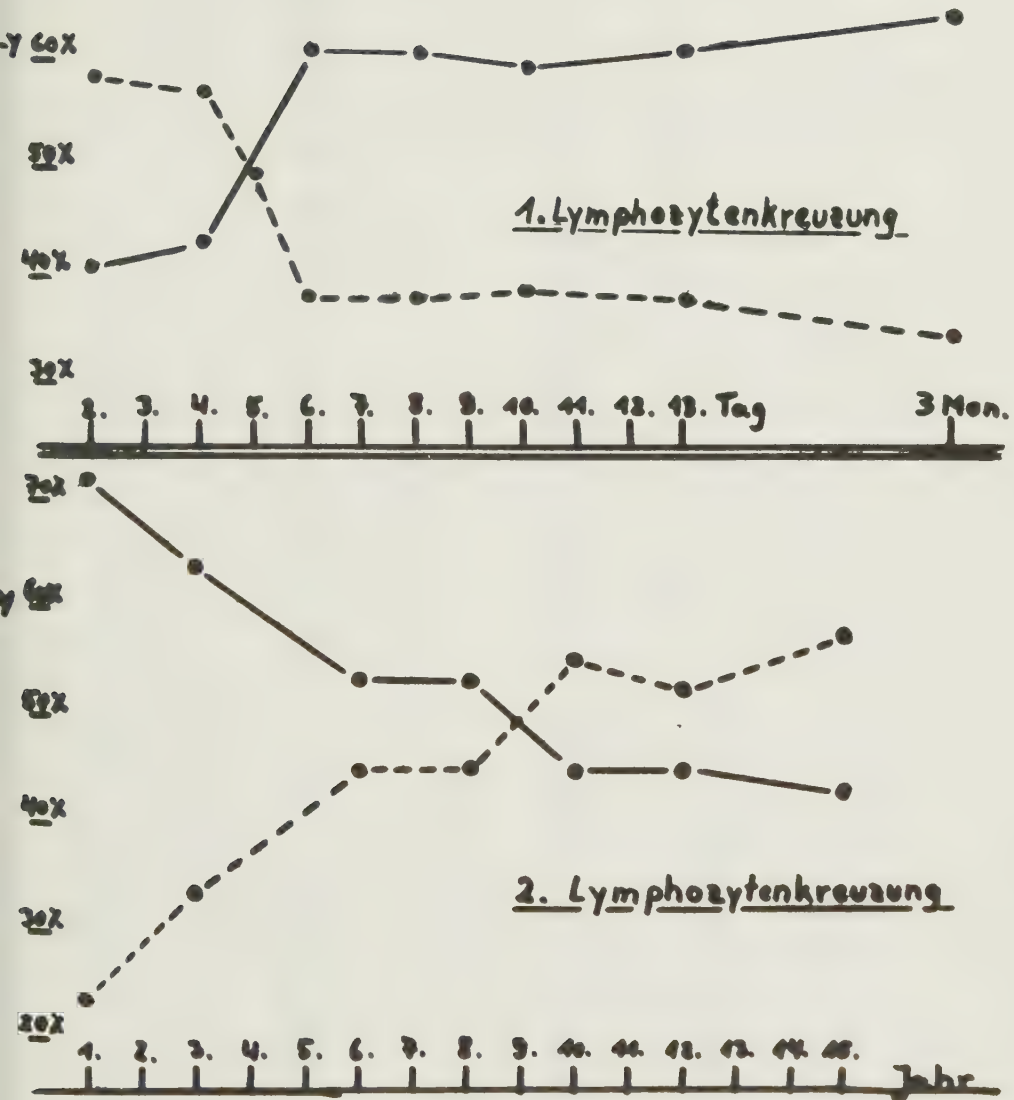


Abb. 3 : Grafische Darstellung der 1. und 2. Lymphozytenkreuzung.

(durchgezogene Linie = Lymphozyten im Differentialblutbild, gebrochene Linie = Granulozyten)

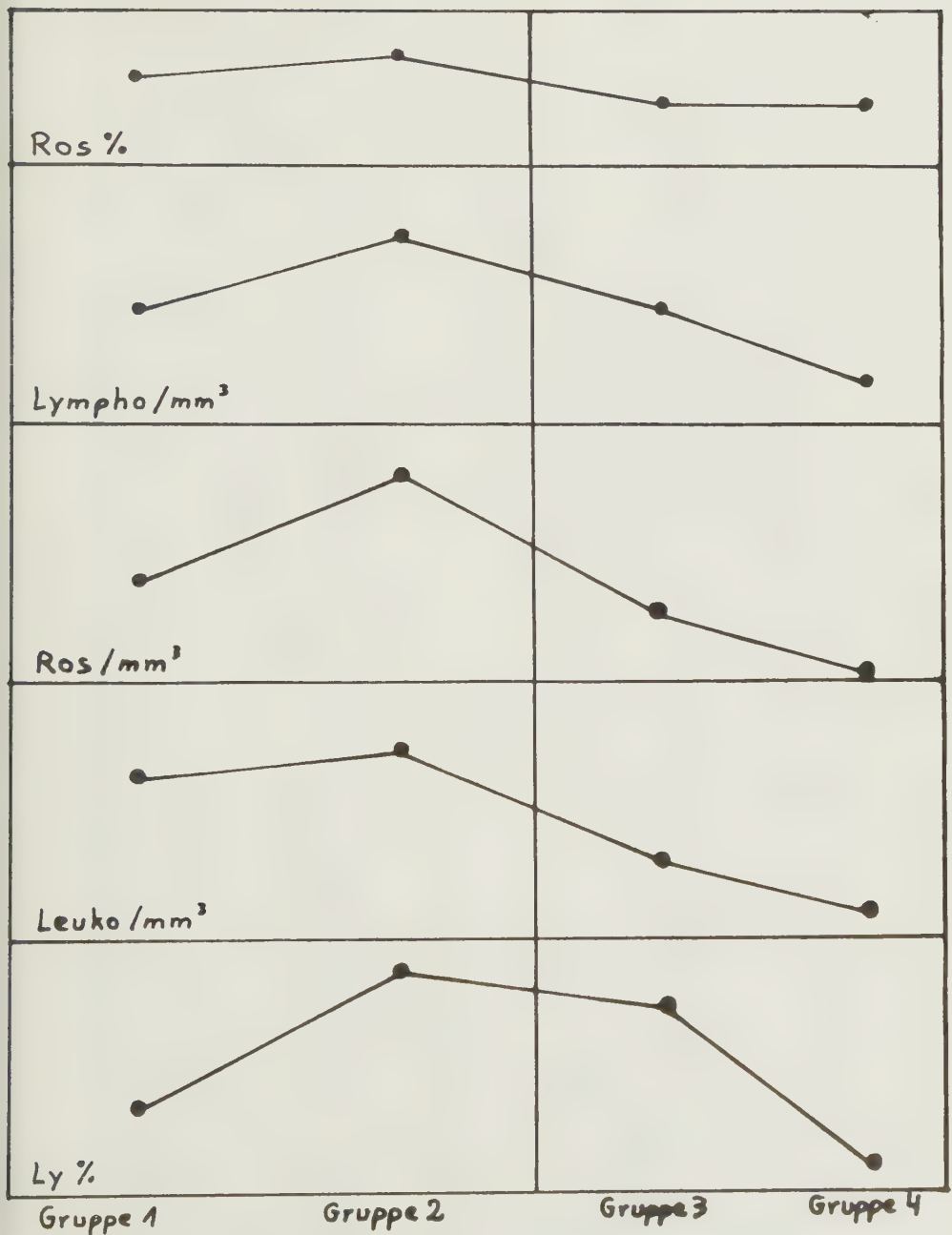


Abb.5 : Synoptische Darstellung der zahlenmäßigen Entwicklung der Leukozyten (Leuko/mm³), Lymphozyten (Ly% und Lympho/mm³) sowie der T-Zellen (Ros% , Ros/mm³) im Laufe des Kindesalters.

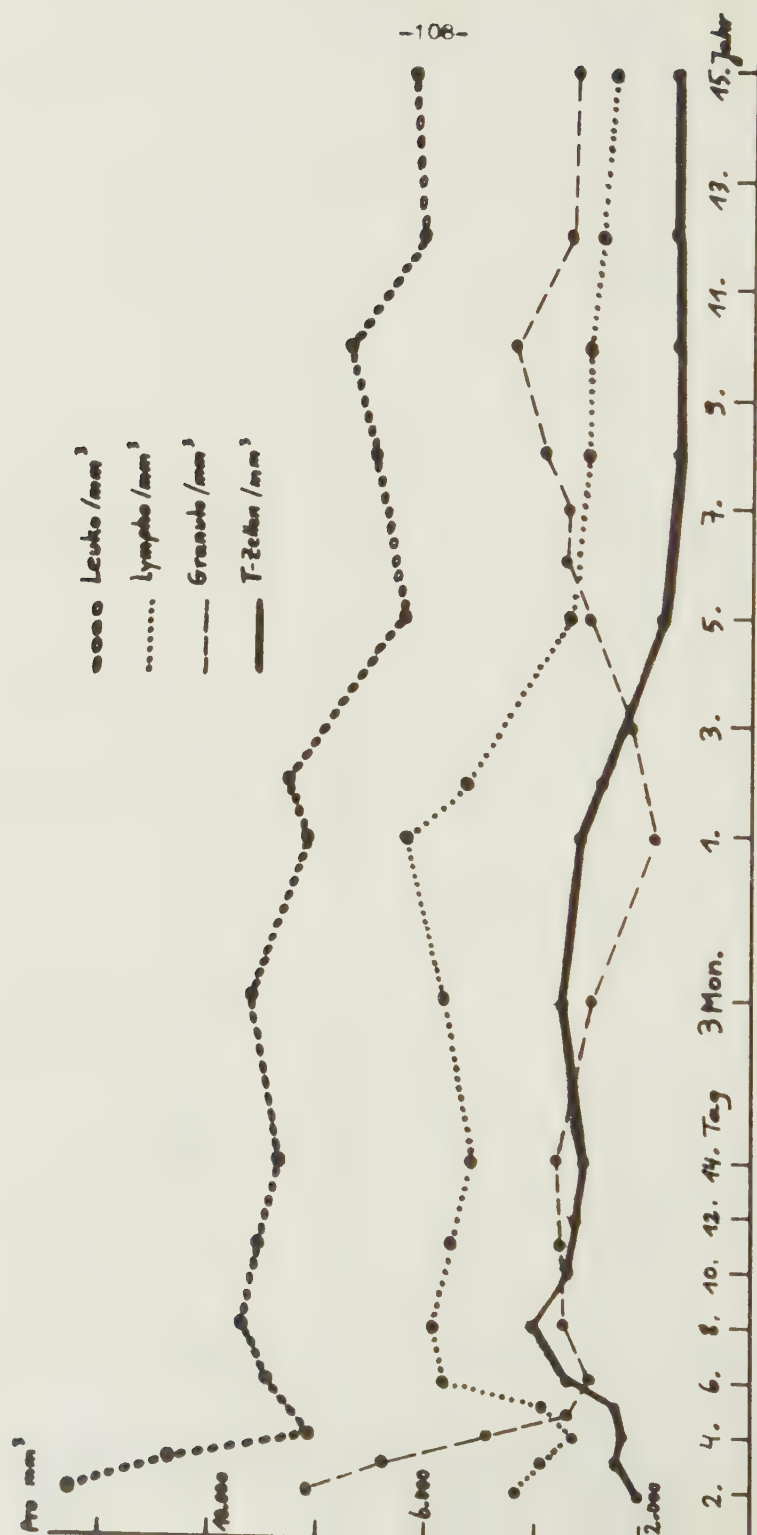


Abb. 6: Grafische Darstellung der zahlenmäßigen Entwicklung der Gesamt-Leukozyten, Granulozyten, Lymphozyten und T-Zellen im peripheren Blut im Laufe des Kindesalters.

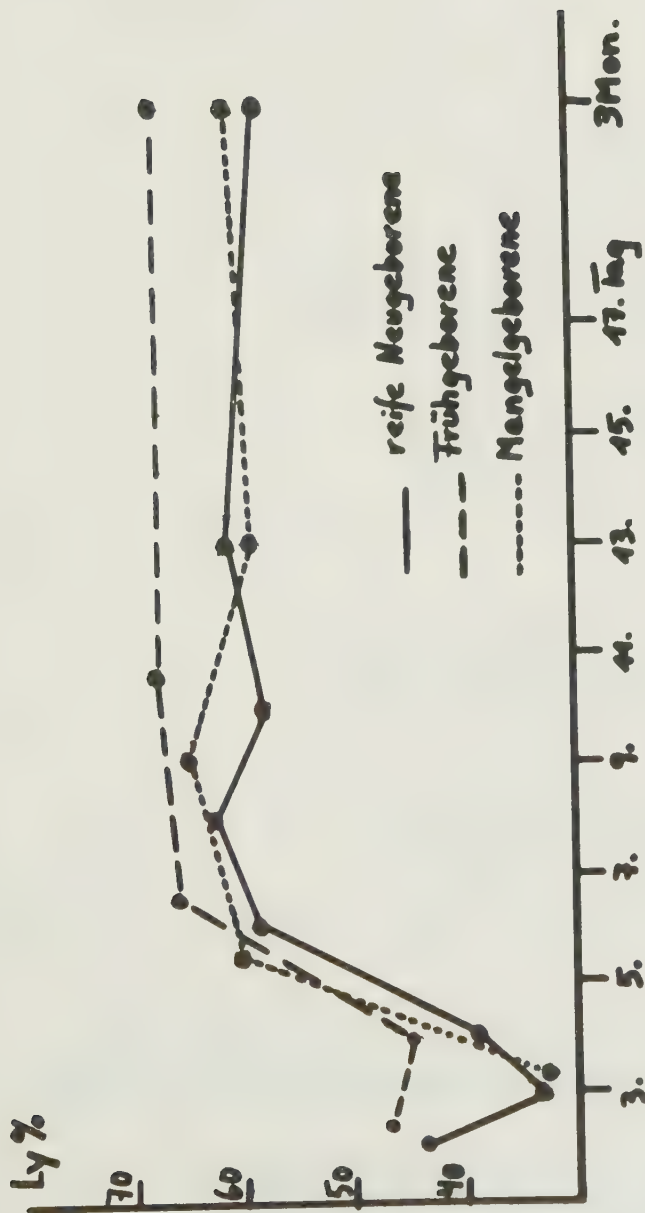


Abb. 7 : Entwicklung der Lymphozyten im Differentialblutbild (Ly%) bei reifen, eutrophen Neugeborenen, Frühgeborenen und Mangelgeborenen.

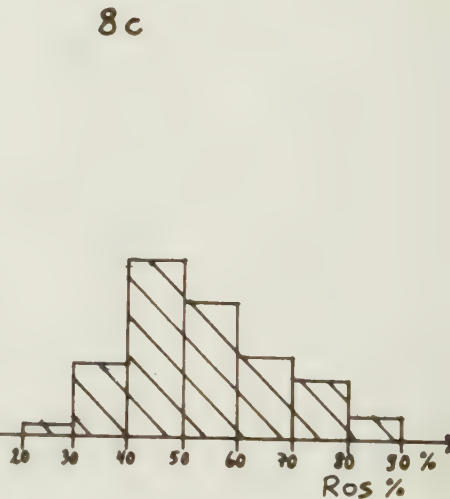
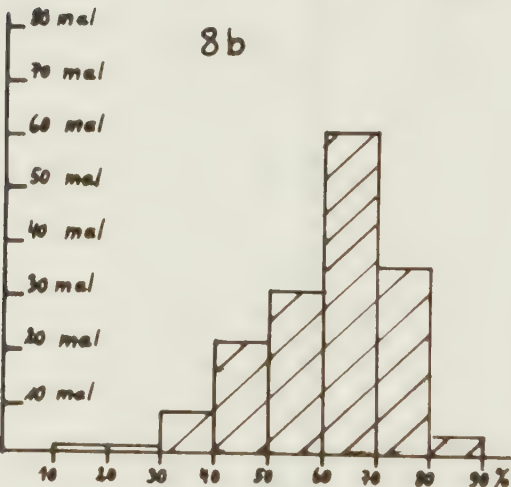
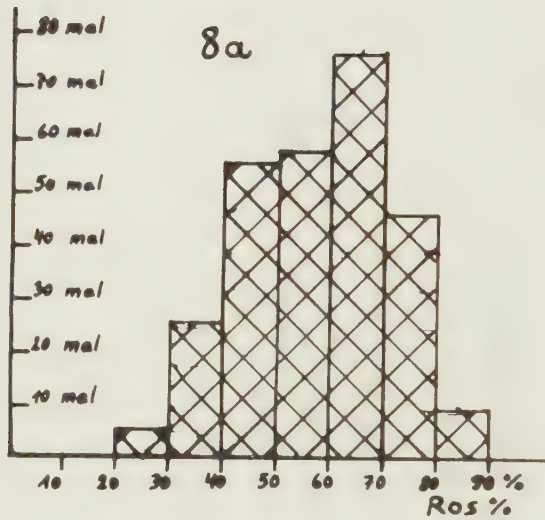


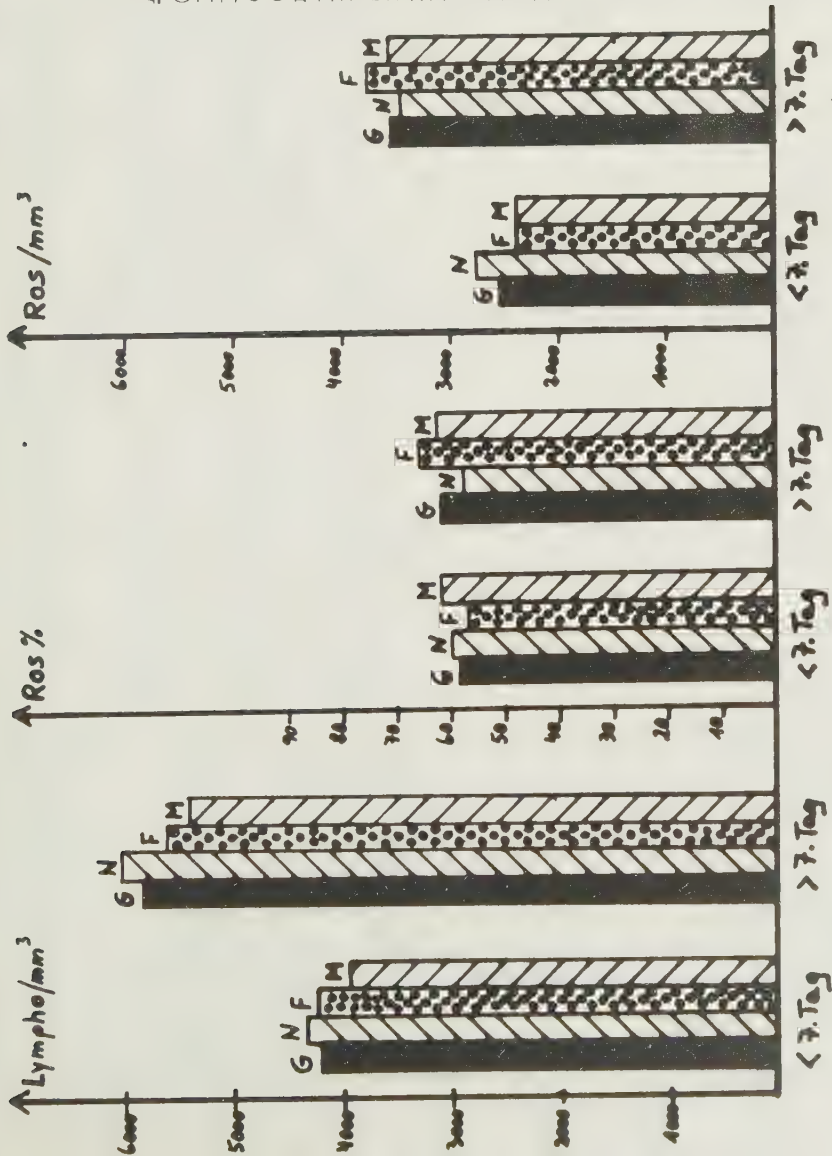
Abb. 8 : Häufigkeitsverteilung der Prozentsätze rosettenbildender Lymphozyten (Ros%) im peripheren Blut.

- in allen 4 Gruppen zusammen ($n=263$), d.h. im Kindesalter vom 2. Lebenstag bis zum 15. Jahr
- in den Gruppen 1 und 2 ($n=159$), d.h. vom 2. Tag bis Ende des 1. Trimenon, also vor und nach der 1. Lymphozytenkreuzung
- in den Gruppen 3 und 4 ($n=104$), d.h. vom 2. Trimenon bis zum 15. Lebensjahr, also vor und nach der 2. Lymphozytenkreuzung

Abb. 9 :

Grafische Gegenüberstellung der Mittelwerte der Prozentsätze rosettenbildender Lymphozyten (Ros%), der T-Zellen pro mm³ (Tos/mm³) und der Lymphozyten pro mm³ (Lympho/mm³) bei reifen Neugeborenen, Frühgeborenen und Mangelgeborenen, jeweils vor und nach der 1. Lymphozytenkreuzung.

G = Gesamt
N = reife Neugeborene
F = Frühgeborene
M = Mangelgeborene



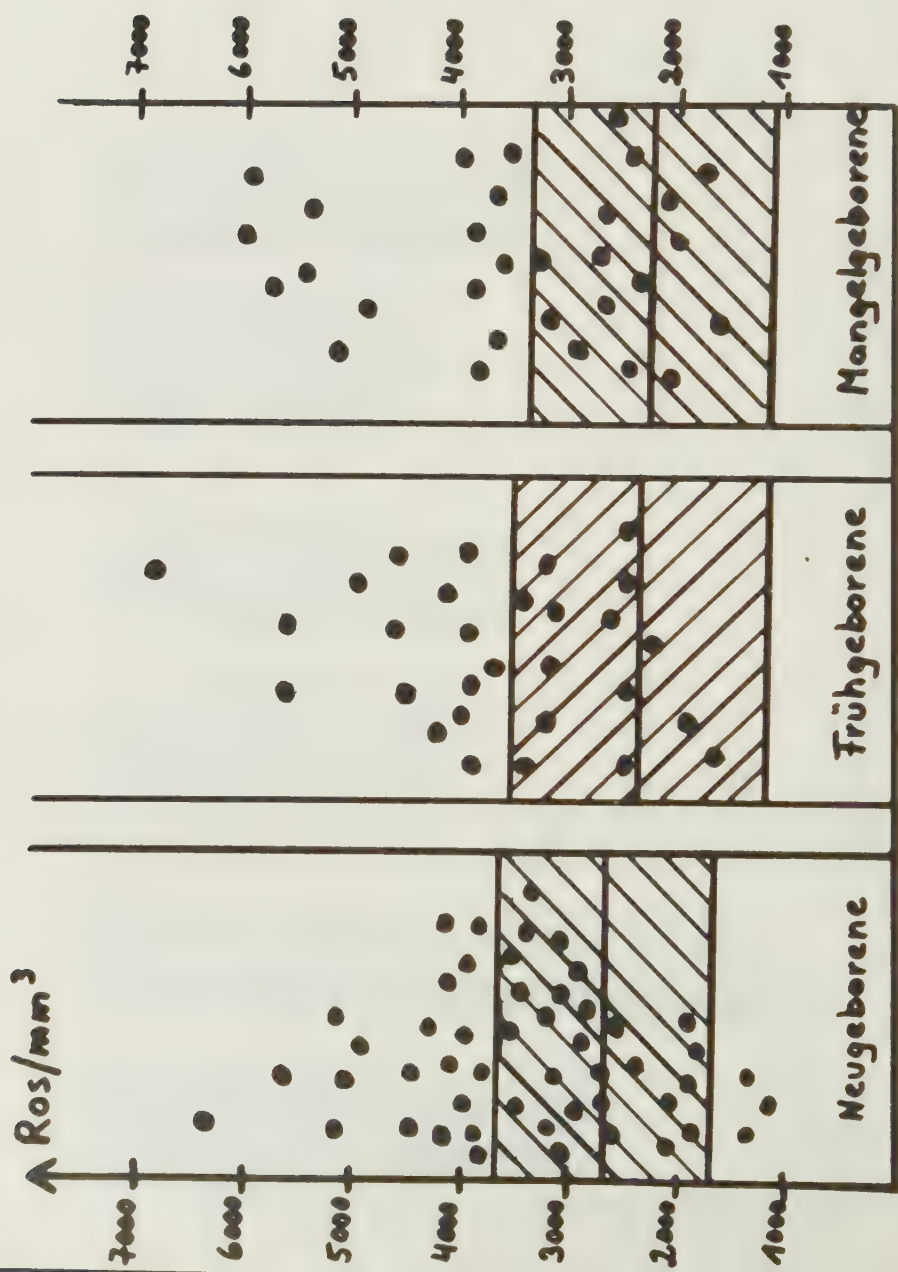


Abb. 10 :

Vergleich der T-Zell-Zahlen/mm³ (Ros/mm³) vor und nach der 1. Lymphozytenkreuzung bei Neugeborenen, Frühgeborenen, Mangelgeborenen.

Der schraffierte Bereich stellt jeweils $\bar{x} \pm s$ der Ergebnisse vor dem 7. Lebenstag dar (Gruppe 1), die Punkte bezeichnen die Einzelwerte nach dem 7. Tag bis zum Ende des 1. Trimenon (Gruppe 2).

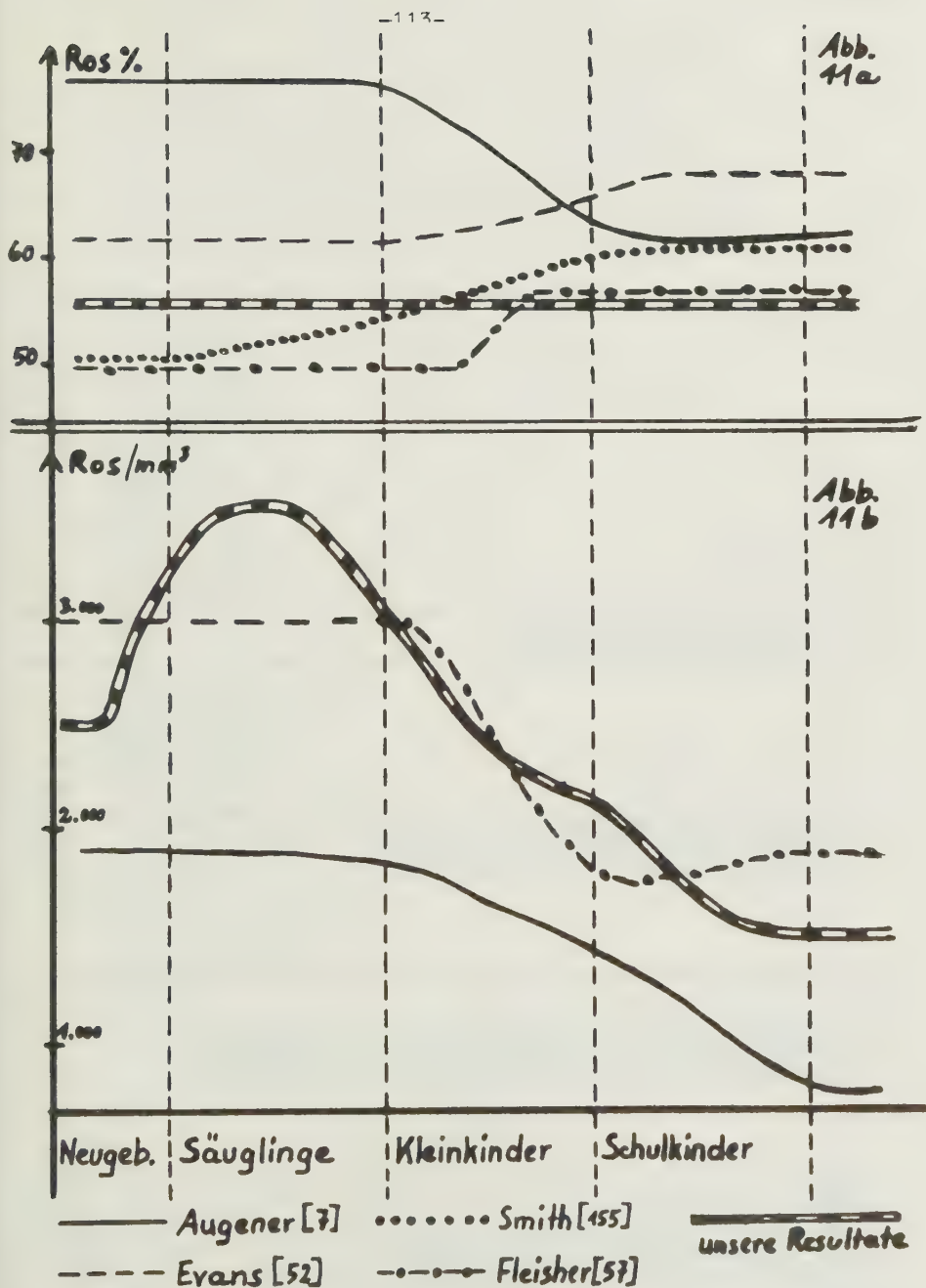


Abb. 11 : Vergleich unserer Ergebnisse mit den in der Literatur angegebenen Resultaten anderer Untersucher.

- a) Prozentsätze rosettenbildender Lymphozyten (Ros%)
 b) T-Lymphozyten pro mm³ Venenblut (Ros/mm³)

Abb. 12 :

Gegenüberstellung
der in der ersten
Lebenswoche (Gruppe 1)
ermittelten Einzel-
werte (Punkte) und der
 $\bar{x} \pm s$ der übrigen Al-
tersgruppen (schraf-
fierte Bereiche) be-
treffend die T-Zellen
pro mm³.

Man erkennt, daß Neu-
geborene in der ersten
Lebenswoche zwar weni-
ger T-Zellen im peri-
pheren Blut aufweisen
als Säuglinge jenseits
der 1. Lymphozytenkreu-
zung (Gruppe 2), daß
sie aber im Vergleich
zu älteren Säuglingen
und Kleinkindern (Grup-
pe 3) sowie zu Schul-
kindern (Gruppe 4)
eher mehr zirkulierende
rosettenbildende Lym-
phozyten haben.

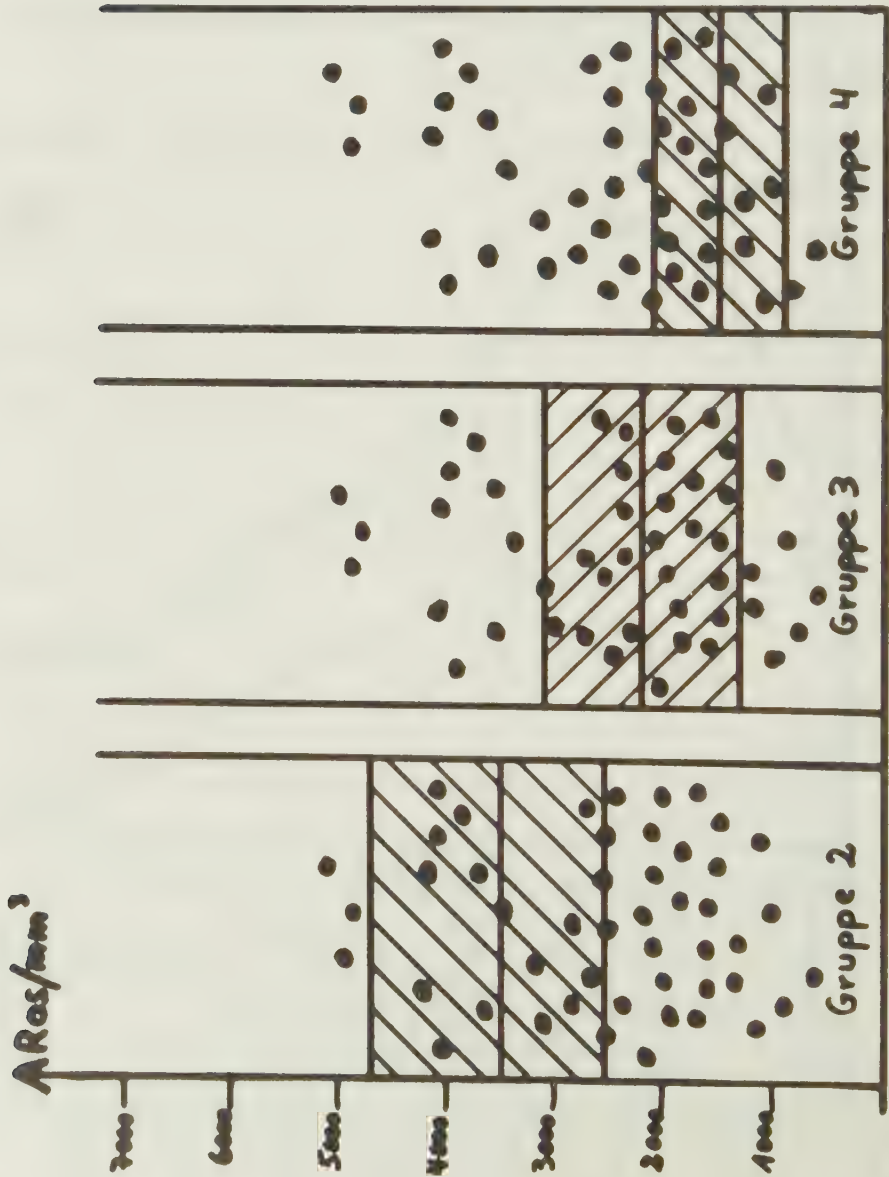
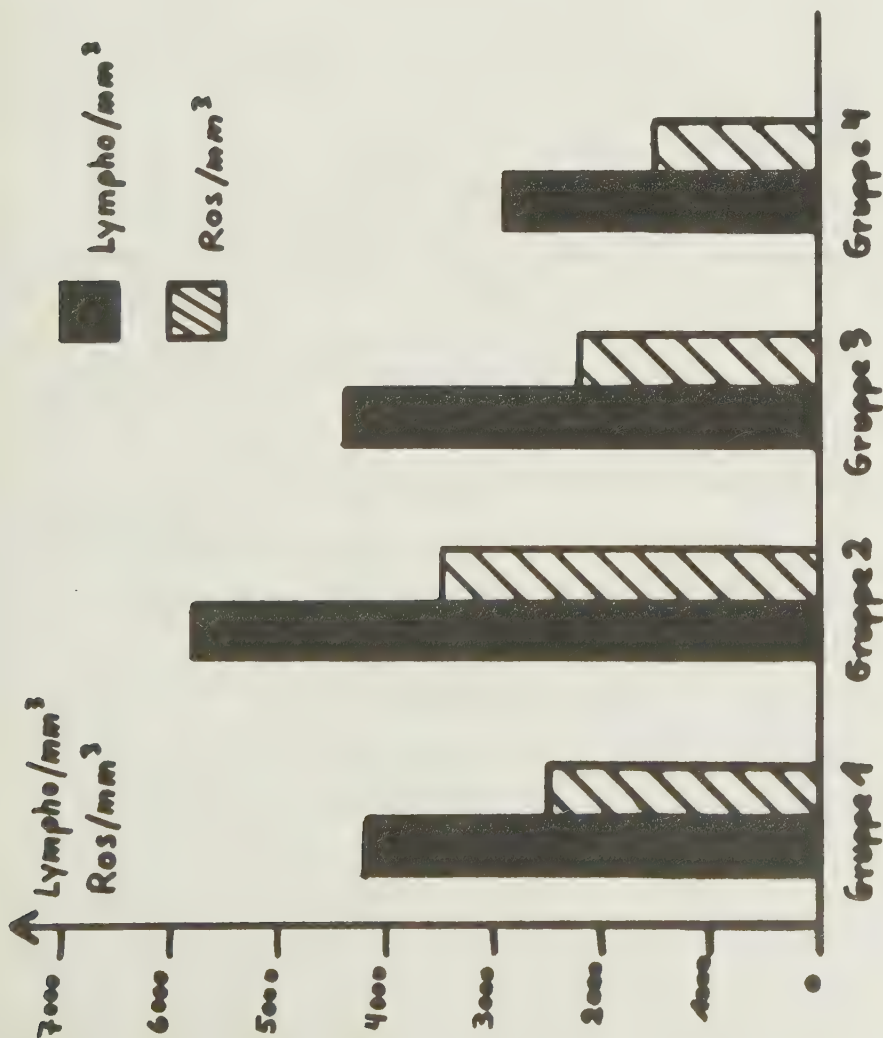


Abb. 13 :

Vergleichende Gegenüberstellung der Mittelwerte für Gesamt-Lymphozyten- mm^3 und T-Zell-Zahlen pro mm^3 in den 4 Gruppen.

(Gruppeneinteilung s. Tab. I)

Man erkennt, daß Neugeborene in der ersten Lebenswoche zwar weniger T-Lymphozyten im peripheren Blut aufweisen als die Säuglinge jenseits der 1. Lymphozytenkreuzung (Gruppe 2), daß sie jedoch im Vergleich zu älteren Säuglingen und Kleinkindern (Gruppe 3) sowie zu Schulkindern (Gruppe 4) sowohl mehr Lymphozyten pro mm^3 als auch mehr T-Zellen pro mm^3 haben.



Verzeichnis der im Text verwendeten Abkürzungen

AB-Serum	Serum der Blutgruppe AB
ACD-Stabilisator	Citric acid-Dextrose-Stabilisator
B-Lymphozyt, B-Zelle	vom sog. Bursa-Äquivalent geprägte Lymphozytenpopulation
BCG	Bacille Calmette-Guérin
BSS	balanced salt solution
C ₁₋₉	Fraktionen 1-9 des Komplementsystems (Complement)
ConA	Concanavalin A
DNS	Desoxyribonukleinsäure
E-Rosette	Spontanrosette aus Lymphozyten und heterologen Erythrozyten
EAC-Rosette	Immunrosette aus einem Lymphozyten und einem Erythrozyt-Anti-Erythrozyt-Antikörper-Komplement-Komplex
EDTA	Ethylendiamintetraacetate (Äthylendiamintetraessigsäure)
F _C -Rezeptor	Rezeptor für aktivierten Komplement-Faktor 3
G/L-Quotient	Verhältnis der Granulozyten zu den Lymphozyten im Differentialblutbild
GVH-Reaktion	graft-versus-host-reaction
I.E.	Internationale Einheiten
Ig	Immunglobulin
IUIS	International Union of Immunological Societies
Leuko/mm ³	Leukozytenzahl pro mm ³ Vollblut
Lympho/mm ³	Lymphozytenzahl pro mm ³ Vollblut
Ly%	Prozentsatz der Lymphozyten in der Blutbildformel

MAF	Makrophagenaktivierungsfaktor
MIF	Makrophageninhibitionsfaktor
min	Minuten
PHA	Phythaemagglutinin
PWM	Pokeweed-Mitogen
RES	Retikulo-Endotheliales-System
RFC	Rosette forming cell = T-Zelle
RHS	Retikulo-Histiozytäres-System
Ros/mm ³	Anzahl rosettenbildender Zellen/mm ³
Ros %	Prozentsatz rosettenbildender Lymphozyten an der Gesamtheit der zirkulierenden Lymphozyten
RNS	Ribonukleinsäure
s	Standardabweichung
SSW	Schwangerschaftswoche
STH	Somatotropes Hormon
T-Lymphozyt, T-Zelle	thymusabhängiger Lymphozyt
T-E _a	aktivierte T-Zelle
T-E _t	totale Anzahl der T-Zellen
T-B-Interaktion = T-B-Kooperation	Zusammenspiel der T- und B-Zellen
T/B-Relation = T/B-Quotient	zahlenmäßiges Verhältnis der T- und B-Lymphozyten zueinander
UPM	Umdrehungen pro Minute
VK	Variationskoeffizient
WHO	World Health Organisation

L i t e r a t u r n a c h w e i s

- [1] ABDOU, N.I., ABDOU, N.L.:
"Bone marrow: the bursa-equivalent in man?"
Science, 446 (1972)
- [2] AIUTI, F., CEROTTINI, J.-C., COOMBS, R.R.A., COOPER, M.,
DICKLER, H.B., FRÖLAND, S., FUDENBERG, H.H., GREAVES, M.F.,
GREY, H.M., KUNKEL, H.G., NATVIG, J., PREUD'HOMME, J.-L.,
RABELLINO, E., RITTS, R.E., ROWE, D.S., SELIGMAN, M.,
SIEGAL, F.P., STJERNSWÄRD, J., TERRY, W.D., WYBRAN, J.:
"Identification, enumeration and isolation of B- and
T-lymphocytes from human peripheral blood", International
Union of Immunological Societies (IUIS), Report July 1974
Clin.Imm.Immunopathol., 3, 584 (1975)
- [3] AIUTI, F., WIGZELL, H.:
"Function and distribution pattern of human T-lymphocytes"
Clin.exp.Immunol., 13, 171 (1973)
- [4] ARALA CHAVES, M., ARRANHADO, E.:
"Rosette formation and immunosuppressive agents"
Lancet, 42 (1972)
- [5] ASAMER, H.:
"Zur immunologischen Charakterisierung immunkompetenter
Lymphozyten"
Wien.klin.Wschr., 25, 401 (1972)
- [6] ASTALDI, G., BURGIO, G.R., ASTALDI jr., A., YALCIN, B.,
MEARDI, G., GATTL, G.:
"Growth hormone and lymphocyte activation"
Lancet, 709 (1972)
- [7] AUGENER, W., COHNEN, G., REUTER, A., BRITTINGER, G.:
"Decrease of T lymphocytes during ageing"
Lancet, 1164 (1974)

- [8] AUGUST, Ch.S., BERKEL, A.I., DRISCOLL, S., MERLER, E.:
"Onset of lymphocyte function in the developing human fetus"
Pediat.Res., 5, 539 (1971)
- [9] BACH, J.F., DARDENNE, M., DAVIES, A.J.S.:
"Early effect of adult thymectomy"
Nature New Biol., 231, 110 (1971)
- [10] BACH, J.F., DARDENNE, M., FOURNIER, C.:
"In vitro evaluation of immunosuppressive drugs"
Nature, 222, 998 (1969)
- [11] BACH, J.F., DORMONT, J.:
"Further developments of the rosette-inhibition test for the testing of antihuman lymphocyte serum"
Transplantation, 11, 96 (1971)
- [12] BACH, J.F., DORMONT, J., DARDENNE, M., BALNER, H.:
"In vitro rosette inhibition by antihuman antilymphocyte serum: correlation with skin graft prolongation in sub-human primates"
Transplantation, 8, 265 (1969)
- [13] BACH, J.F., PAPERNIK, M., LEVASSEUR, P., DARDENNE, M., BAROIS, A., BRIGAND, H.:
"Evidence for a serum-factor secreted by the human thymus"
Lancet, 1056 (1972)
- [14] BARNES, L.A., KHADRAOUI, S., HITZIG, W.H., QUIE, P., MATSUMURA, T., EIFE, R., MATSANIOTIS, N., LEVIN, M.J., KOBAYASHI, N.:
XIV. Internationaler Kongress für Kinderheilkunde, Buenos Aires 1974
- [15] BAST, R.C., ZBHAR, B., BORSOS, T., RAPP, H.J.:
"BCG and cancer, II "
New Engl.J.Med., 290, 1458 (1974)
- [16] BAXLEY, G., BISHOP, G.B., COOPER, H.H., WORTIS, H.H.:
"Rosetting of human red blood cells to thymocytes and thymus-derived cells"
Clin.exp.Imm., 15, 385 (1973)

- [17] Vortragsveranstaltung der Arbeitsgruppe "Klinische Biochemie" am Klinikum der Universität Freiburg, 20.1.1976
- [18] BENTWICH, Z., DOUGLAS, S.D., SIEGAL, F.P., KUNKEL, H.G.:
"Human lymphocyte-sheep erythrocyte rosette formation: some characteristics of the interaction"
Clin.Imm.Immunopathol., 1, 511 (1973)
- [19] BENTWICH, Z., DOUGLAS, S.D., SKUTELSKY, E., KUNKEL, H.G.:
"Sheep red cell binding to human lymphocytes treated with neuraminidase; enhancement of T cell binding and identification of a subpopulation of B cells"
J.exp.Med., 137, 1532 (1973)
- [20] BIANCO, C., PATRICK, R., NUSSENZWEIG, V.:
"A population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody-complement complexes.
I. Separation and characterisation"
J.exp.Med., 132, 702 (1970)
- [21] BIOZZI, G., STIFFEL, C., MOUTON, D., LIACOPOULOS-BRIOT, M.,
DECREUSEFOND, C., BOUTHILLIER, Y.:
"Etude du phénomène de l'immuno-cyto-adhérence au cours de l'immunisation"
Ann.Inst.Pasteur, 110, 7 (1966)
- [22] BLÄKER, F., GROB, P.J.:
"Transfer-Faktor"
Die Gelben Hefte, Immunbiologische Informationen Behring
15, 1 (1975)
- [23] BLANCO, S., BLANCO, A., VILLARES, S.E.:
"B-lymphocytes during childhood"
Lancet, 384 (1973)
- [24] BÖYUM, A.:
"Separation of leukocytes from blood and bone marrow"
Scand.J.Clin.Lab.Invest., 21, Seiten 9, 31, 51, 77 (1968)
- [25] ROONPUCKNAVIG, S., VUTTIVIROJANA, A., RUANGJIRACHUPORN, W.,
SIRIPONT, J.:
"B and T lymphocytes in autoimmune diseases"
Lancet, 414 (1975)

- [26] BRAIN,F., GORDON,J.:
"Rosette formation by peripheral lymphocytes
II.Inhibition of the phenomenon"
Clin.exp.Immunol.,8,441 (1971)
- [27] BRAIN,F., GORDON,J., WILLETTTS,W.A.:
"Rosette formation by peripheral lymphocytes"
Clin.exp.Immunol.,6,681 (1970)
- [28] BRENT,H., COTTIER,H., GRUNDMANN,E., TREPEL,F.W.:
"Physiologie und Pathologie des lymphatischen Systems"
79.Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin,
29.April - 3.Mai 1973, Wiesbaden
- [29] BROCK,J.:
"Biologische Daten für den Kinderarzt"
2.Aufl.,Band I,S.189-200, Springer-Verlag (1954)
- [30] BROWN,G., GREAVES,M.F.:
"Cell surface markers for human T and B lymphocytes"
Eur.J.Immunol.,4,302 (1974)
- [31] BROWN,G., GREAVES,M.F.:
"Enumeration of absolute numbers of T and B lymphocytes
in human blood"
Scand.J.Immunol.,3,161 (1974)
- [32] BULLOCK,J.D., ROBERTSON,A.F., BODENBENDER,J.G.,
KANTRAS,S.B., MILLER,C.E.:
"Inflammatory response in the neonate re-examined"
Pediatrics,44,58 (1969)
- [33] CAMPBELL,R.C.:
"Statistische Methoden für Biologie und Medizin"
Georg Thieme Verlag,Stuttgart (1974)
- [34] CHANDRA,R.K.:
"Immunocompetence in under-nutrition"
J.Pediatr.,81,1194 (1972)
- [35] CHANDRA,R.K.:
Persönliche Mitteilung an FERGUSON et al.[54]

- [36] CHAPEL, H.M.:
"The effects of papain, trypsin, and phospholipase A on rosette formation"
Transplantation, 15, 320 (1973)
- [37] COHNEN, G.:
"Funktion und Oberflächenmarker menschlicher T- und B-Lymphozyten"
Dtsch.med.Wschr., 99, 2241 (1974)
- [38] CRADDOCK, C.G., LONGMIRE, S., McMILLAN, R.:
"Lymphocytes and the immune response"
New Engl.J.Med., 285, 324 und 378 (1971)
- [39] DAVIS, S.D.:
"Immunodeficiency, runting syndrome, and other anomalies in the rat due to congenital pyridoxine deficiency"
Clin.Res., 22, 227 (1974)
- [40] DICKLER, H.B., ADKINSON, N.F., TERRY, W.D.:
"Evidence for individual human peripheral blood lymphocytes bearing both B and T cell markers"
Nature, 247, 213 (1974)
- [41] DICKLER, H.B., KUNKEL, H.G.:
"Interaction of aggregated γ -globulin with B-lymphocytes"
J.exp.Med., 136, 191 (1972)
- [42] DICKLER, H.B., SIEGAL, F.P., BENTWICH, Z.H., KUNKEL, H.G.:
"Lymphocyte binding of aggregated IgG and surface Ig staining in chronic lymphocytic leucaemia"
Clin.exp.Immunol., 14, 97 (1973)
- [43] DOCUMENTA GEIGY
"Wissenschaftliche Tabellen"
7.Aufl., S.615 (1969)
- [44] DOSSETT, J.H.:
"Microbial defense of the child and man"
Pediatric Clinics of North America, 19, 355 (1972)

- [45] DRINGS,P., SONNEMANN,E.:
"Der Einfluß von Prednisolon auf die durch Phythäm-
agglutinin induzierte Euchromatisierung in menschlichen
Lymphozyten"
Inn.Med.,1,13 (1974)
- [46] DUTZ,W., ROSSIPAL,E., GHAVAMI,H., VESSAL,K., KOHOUT,E.,
POST,C.:
"Persistant cell-mediated immune-deficiency following
infantile stress during the first 6 months of life"
Europ.J.Pediat.,122,117 (1976)
- [47] DYBKJAER,E.,et al.:
Vortrag auf dem 14.Internationalen Kongreß der Society
of Blood Transfusion,Helsinki,27.Juli-2.August 1975,
zitiert nach Selecta,10,962 (1976)
- [48] EDWARDS,F.R., WHITWELL,F.:
"Use of BCG as an immunostimulant in the surgical treat-
ment of carcinoma of the lungs"
Thorax,29,654 (1974)
- [49] EIFE,R.F., EIFE,G., AUGUST,Ch.S., KUHRE,W.L.,
STAEHR-JOHANSEN,K.:
"Lymphotoxin production and blast cell transformation by
cord blood lymphocytes: dissociated lymphocyte function
in newborn infants"
Vortrag auf der VI.Tagung der Gesellschaft für Immunologie,
23.-25.September 1974, Hannover
- [50] EIFE,R.F.:
"PHA-induzierte Lymphotoxin-Bildung und Lymphozyten-
transformation bei Immundefizienzen"
Vortrag auf der 71.Tagung der Dt.Gesellsch.f.Kinderheilk.,
9.-11.September 1974, Hamburg
- [51] ELLIOTT,B.E., HASKILL,J.S.:
"Characterization of thymus-derived and bone marrow-
derived rosette-formation lymphocytes"
Eur.J.Immunol.,3,68 (1973)

- [52] EVANS,D.I.K., VYRAMUTHU,N., PALMER,M.:
"E-rosette-forming cells in mother and newborn"
Lancet,1078 (1976)
- [53] FAUCI,A.S., DALE,D.C.:
"The effect of in vivo hydrocortisone on sub-populations
of human lymphocytes"
J.Clin.Invest.,53,240 (1974)
- [54] FERGUSON,A.C., LAWLOR,G.J., NEUMANN,Ch.G., OH,W.,
STIEHM,E.R.:
"Decreased rosette-forming lymphocytes in malnutrition
and intrauterine growth retardation"
J.of Pediatrics,85,717 (1974)
- [55] FIREMAN,P., ZUCHOWSKI,D.A., TAYLOR,P.M.:
"Development of human complement system"
J.Immunol.,103,25 (1969)
- [56] FISCHER,K., POSCHMANN,A.:
"Schutz und Krankheit durch Immunreaktionen"
Kurzinformation der Fa.Wellcome über den wissenschaftl.
Film "Schutz und Krankheit durch Immunreaktionen"
- [57] FLEISHER,T.A., LUCKASEN,J.R., SABAD,A., GEHRTZ,R.C.,
KERSEY,J.H.:
"T and B lymphocyte subpopulations in children"
Pediatrics,55,162 (1975)
- [58] FRÖLAND,S.S.:
"Binding of sheep erythrocytes to human lymphocytes.
A probable marker of T-lymphocytes"
Scand.J.Immunol.,1,269 (1972)
- [59] FRÖLAND,S.S., NATVIG,J.E.:
"Lymphocytes with membrane bound immunoglobulin(B-lympho-
cytes) in newborn babies"
Clin.exp.Immunol.,11,495 (1972)
- [60] FUDENBERG,H.H., WYBRAN,J., ROBBINS,D.:
"T-rosette-forming cells, cellular immunity and cancer"
New Engl.J.Med.,27,475 (1975)

- [61] Van FURTH,R., SCHUIT,H.R.E., HIJMANS,W.:
"The immunological development of the human fetus"
J.exp.Med.,122,1173 (1965)
- [62] GAJL-PECZALSKA,K.J., HALLGREN,H., KERSEY,J.H., ZUSMAN,J.,
YUNIS,E.J.:
"B lymphocytes during ageing"
Lancet,163 (1974)
- [63] GAJL-PECZALSKA,K.J., PARK,B.H., BIGGAR,W.D., GOOD,R.A.:
"B and T lymphocytes in primary immunodeficiency disease
in man"
J.Clin.Invest.,52,919 (1973)
- [64] GALILI,U., SCHLESINGER,M.:
"The formation of stable E-rosettes after neuraminidase
treatment of either human peripheral blood lymphocytes or
of sheep red blood cells"
J.Immunol.,5,1628 (1974)
- [65] GEHA,R.S., ROSEN,F.S., KERLER,E.:
"Identification and characterization of subpopulations of
lymphocytes in human peripheral blood after fractionization
or discontinuous gradients of albumin. The cellular defect
in X-linked agammaglobulinemia"
J.Clin.Invest.,52,1726 (1973)
- [66] GERGELY,P., SZEGEDI,G., FEKETE,B., SZABO,G., PETRANYI,G.:
"Lymphocyte surface immunoglobulins in autoimmune diseases"
Lancet,482 (1973)
- [67] GERSHON,R.K., KONDO,K.:
"Infectious immunological tolerance"
Immunology,21,903 (1971)
- [68] GLICK,B., CHANG,T.S., JAAP,R.C.:
"The bursa Fabricius and antibody production"
Poultry Sci.,35,244 (1956)

- [69] GOLDBLUM, R.M., LORD, R.A., COOPER, M.D., GATHINGS, W.E.,
GOLDMAN, A.S.:
"X-linked B lymphocyte deficiency"
J. Pediatr., 85, 188 (1974)
- [70] GOOD, R.A., BIGGAR, W.D., PARK, B.:
in: Amos, B.: "Progress in immunology", New York 1971,
Academic Press, S. 700
- [71] GOTOFF, S.P.:
"Neonatal immunity"
J. Pediatr., 85, 149 (1974)
- [72] GREAVES, M.F., OWEN, J.J.T., RAFF, M.C.:
"T and B lymphocytes: origins, properties, and roles in
immune responses"
Excerpta Medica Amsterdam, American Elsevier Publishing Co.
(1974)
- [73] GROB, P.J., BLÄKER, F., SCHULZ, K.H.:
"Immunfunktion und Transferfaktor"
Dtsch. med. Wschr., 98, 446 (1973)
- [74] GUPTA, S., GRIECO, M.H.:
"E-rosette test"
Lancet, 954 (1974)
- [75] GUTZEIT, D., BADER, H.-M., OEHME, J.:
"Die Bedeutung des Alpha₁-Fetoproteins für das Kindesalter"
Mschr. Kinderheilk., 122, 98 (1974)
- [76] HA, T.-Y., WAKSMAN, B.H.:
"Role of thymus in tolerance"
J. Immunol., 110, 1290 (1973)
- [77] HAFERKAMP, O.:
"Der schutzlose Organismus"
Dtsch. med. Wschr., 99, 203 (1974)
- [78] HAFERKAMP, O., BÜLTMANN, B.:
"Serumabhängige Funktionsstörungen von Granulozyten"
Dtsch. med. Wschr., 99, 182 (1974)

- [79] HAHN, H.:
"zelluläre antibakterielle Immunität"
Dtsch.med.Wschr., 99, 651 (1974)
- [80] HANDLER, J.:
"Empfehlungen zur Lymphozyten-Differenzierung"
Die Gelben Hefte, Immunbiologische Informationen Behring,
1, 36 (1975)
- [81] HARRIS, R., UKAEJIOFO, E.O.:
"Rapid preparation of lymphocytes for tissue-typing"
Lancet, 327 (1969)
- [82] HAYRY, P., ANDERSSON, L.C., NORDLING, S.:
"Electrophoretic fractionation of mouse T and B lymphocytes. Efficiency of the method and purity of separated cells"
Transplant.Proc., 1, 87 (1973)
- [83] HAYWOOD, A.R., EZER, G.:
"Development of lymphocyte populations in the human fetal thymus and spleen".
Clin.exp.Immunol., 17, 169 (1974)
- [84] HEIDE, H.:
7.Fortbildungstagung der Universität Erlangen-Nürnberg
über Fortschritte in der Infektionsimmunologie,
22.Juni 1974, Erlangen
- [85] HEIDEL, G.:
"Interferone und ihre Anwendung in der Prophylaxe und Therapie"
Zeitschr.f.Ärztli.Fortb., 69, 45 (1975)
- [86] HENNEY, Ch.S.:
"Killer T-cells"
New Engl.J.of Med., 19, 1357 (1974)
- [87] HITZIG, W.H.:
XIV.Internat.Kongress für Kinderkeilk., Buenos Aires 1974

- [88] HUBER, Ch., ASAMER, H., KURZ, R., HUBER, H., BRAUNSTEINER, H.:
"Zytologischer Immunglobulinnachweis an DNS-synthetisierenden Blutlymphozyten von Patienten mit Virusinfektionen"
Acta haemat., 45, 23 (1971)
- [89] HUBER, H., MICHLMAYR, G., ASAMER, H., HUBER, Ch., BRAUNSTEINER, H.:
"Die Differenzierung menschlicher Blutlymphozyten mit immunologischen und autoradiographischen Methoden"
Klin. Wschr., 50, 504 (1972)
- [90] JOHNSTON, R. B., JANEWAY, Ch. A.:
"The child with frequent infections: diagnostic considerations"
Pediatrics, 43, 596 (1969)
- [91] JONDAL, M., HOLM, G., WIGZELL, H.:
"Surface markers on human T and B lymphocytes:
I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells"
J. exp. Med., 136, 207 (1972)
- [92] KALLOS, P.:
"Beiträge zur Immunbiologie der Tuberkulose"
Naturwissenschaften, 63, 185 (1976)
- [93] KATO, K.:
"Leucocytes in infancy and childhood"
J. Pediatr., 7, 7 (1935)
- [94] KEDAR, E., De LANDAZURI, M. O., BONAVIDA, B.:
"Cellular immunoadsorbents: a simplified technique for separation of lymphoid cell population"
J. Immunol., 3, 1231 (1974)
- [95] KERSEY, J. H., GAJL-PECZALSKA, K. J., NESBIT, M. E.:
"The lymphoid system: abnormalities in immunodeficiency and malignancy"
J. Pediatr., 6, 789 (1974)

- [96] KERSEY, J.H., NESBIT, M.E., HALLGREN, H., SABAD, A.,
YUNIS, E., GAJL-PECZALSKA, K.J.:
"Evidence for origin of certain childhood acute lympho-
blastic leukemias and lymphomas in thymus-derived lympho-
cytes"
Cancer, 36, 1348 (1975)
- [97] KERSEY, J.H., SABAD, A., GAJL-PECZALSKA, K.J., HALLGREN, H.,
YUNIS, E., NESBIT, M.E.:
"Acute lymphoblastic leukemic cells with markers of
T lymphocytes"
Science, 182, 1355 (1973)
- [98] KERSEY, J.H., SPECTOR, B.D., GOOD, R.A.:
"Cancer in children with primary immunodeficiency dis-
orders"
J. Pediatr., 84, 263 (1974)
- [99] KLEIN, G.:
Deutscher Krebskongress 14.-16. Februar 1974, München
- [100] KOBAYASHI, N.:
XIV. Internat. Kongreß für Kinderheilk., Buenos Aires 1974
- [101] LACAVA, V., FIORELLI, M., VADALA, A., PICCOLI, M., FRANCHI, F.,
PEZZALA, M.:
"Linfociti con immunoglobuline di membrana nel sangue del
cordone ombelicale di neonati a termine e in quello delle
rispettive madri"
Progr. med. (Roma), 29, 362 (1973)
- [102] LASKOV, R.:
"Rosette forming cells in non-immunized mice"
Nature, 219, 973 (1968)
- [103] LAY, W., MENDES, N.F., BIANCO, C., NUSSENZWEIG, V.:
"Binding of sheep red blood cells to a large population
of human lymphocytes"
Nature, 230, 531 (1971)
- [104] LAY, W., NUSSENZWEIG, V.:
"Receptors for complement of leukocytes"
J. exp. Med., 128, 991 (1968)

- [105] LEVIN, M.J.:
XIV. Internat. Kongreß für Kinderheilk., Buenos Aires 1974
- [106] De LIMA, G., MITSCHERLICH, E.:
"Untersuchungen über die Zahl der B- und T-Lymphozyten
im strömenden Blut von gesunden, leukoseverdächtigen
und leukosekranken Rindern der Deutschen Schwarzbunten"
Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B, 20/9, 665 (1973)
- [107] MACKANESS, G.B.:
"Zelluläre Immunität"
Die Gelben Hefte, Immunbiologische Informationen Behring,
15, 141 (1975)
- [108] McCONNACHIE, P.R., RACHELEFSKY, G., STIEHM, E.R., TERASAKI, P.J.:
"Antibody-dependent lymphocyte killer function and age"
Pediatrics, 52, 795 (1973)
- [109] MENDES, N.F., TOLNAI, M.E.A., SILVEIRA, N.P.A., METZGAR, R.S.,
GILBERTSEN, R.B.:
"Technical aspects of the rosette test used to detect
human complement receptor(B) and sheep erythrocyte-binding
(T)lymphocytes"
J. Immunol., 3, 860 (1973)
- [110] METZ, D.:
"Interferon: Das Rätsel des Antiviralfaktors"
Die Gelben Hefte, Immunbiologische Informationen Behring,
1, 1 (1976)
- [111] MILLER, J.F.A.P.:
"Immunological function of the thymus"
Lancet, 748 (1961)
- [112] MILLER, J.F.A.P., MITCHELL, G.F.:
"Thymus and antigen-reactive cells"
Transplant. Rev., 1, 3 (1969)

- [113] MILLER, M.E.:
"Phagocytosis in the newborn infant: humoral and cellular factors"
J. Pediatr., 2, 255 (1969)
- [114] MORTON, H., CLUNIE, G.J.A.:
"The rosette inhibition test, technical considerations"
Transplantation, 14, 211 (1972)
- [115] NØGAARD-PEDERSEN, B.:
"alpha₁-fetoprotein concentrations in cord serum as a parameter for gestational age"
Acta Paediat. Scand., 62, 167 (1973)
- [116] OEHME, J.:
"The in vitro transformation of lymphocytes of premature and mature infants"
Bayer-Symposium I, 146 (1969)
- [117] OEHME, J.:
"V. Int. Seminarkongreß f. prakt. Medizin, 16.-28.4.1973 Meran"
- [118] OEHME, J.:
"Pädiatrische Immunologie"
Kinderarzt, 4, 286 (1974)
- [119] OEHME, J., GUTZEIT, D.:
"Lymphozyten"
Klin. pädiatrie, 185, 335 (1973)
- [120] OEHME, J., GUTZEIT, D.:
"Abwehrschwäche bei Kindern"
Dt. Ärzteblatt, 6, 365 - 9, 621 - 11, 775 (1974)
- [121] OEHME, J., RITTER, J.:
"Behandlung von Immundefekten bei Kindern"
Dtsch. med. Wschr., 12, 624 (1975)
- [122] OPITZ, H., SCHMID, F.:
"Handbuch der Kinderheilkunde", Springer-Verlag, 6. Bd. (1967)

- [123] PACHMANN, L.M., KIRKPATRICK, Ch.H., KAUFMANN, D.H.,
ROTHBERG, R.M.:
"The lack of effect of transfer factor in thymic dysplasia with immunoglobulin synthesis"
J.Pediatr., 84, 681 (1974)
- [124] PAISLEY, R.B., ANGERS, M., FRENK, S.:
"Plasma cortisol levels in malnourished children with and without superimposed acute stress"
Arch.Dis.Child., 48, 714 (1973)
- [125] PALITZSCH, D.:
"Diagnose von Krankheiten mit Immuninsuffizienz"
Kinderarzt, 3, 277 (1976)
- [126] PAPAEOANGELOU, C., PAPADATOS, C., ALEXIOU, D.:
"Perinatal mortality and morbidity in small-for-date newborns"
Helv.Paediat.Acta, 27, 415 (1972)
- [127] PAPAIOANNOU, A.N.:
"Prolactin, levodopa, and immune response in breast cancer"
Lancet, 226 (1972)
- [128] PAPAMICHAIL, M., HOLBOROW, E.J., KEITH, H.J., CURREY, H.L.F.:
"Subpopulations of human peripheral blood lymphocytes distinguished by combined rosette formation and membrane immunofluorescence"
Lancet, 64 (1972)
- [129] PARCELLS, A.J.:
"Rosette formation"
Lancet, 709 (1972)
- [130] PARK, B.H., HOLMES, B., GOOD, R.A.:
"Metabolic activities in leucocytes of newborn infants"
J.of Pediatr., 76, 237 (1970)

- [131] PETRUSSA, I.:
"A scoring system for the assessment of gestational age of newborn infants"
Proc. 2nd Europ. Congr. Perinatal Medicine London, 247 (1970)
Karger, Basel 1971
- [132] POLLIAK, A., LAMPEN, N., CLARKSON, B.D., De HARVEN, E.,
BENTWICH, Z., SIEGAL, F.P., KUNKEL, H.:
"Identification of human B and T lymphocytes by scanning electron microscopy"
J. exp. Med., 138, 607 (1973)
- [133] Del POZO, P., PRIETO, V., GONZALEZ, G., VELASCO, A.:
"Effects of age and sex on T and B lymphocyte populations in man"
Biomed. Express, 8, 340 (1973)
- [134] PRINDULL, G., PRINDULL, B.:
"Hämatopoetische Stammzellen, das lymphatische thymus-abhängige System und primäre Immunmangelsyndrome des Kindesalters"
Mschr. Kinderheilk., 121, 22 (1973)
- [135] RAFF, M.C.:
"Two distinct populations of peripheral lymphocytes in mice distinguishable by immunofluorescence"
Immunology, 19, 637 (1970)
- [136] RAO, K.S., SRIKANTIA, S.G., GOPALAN, C.:
"Plasma cortisol levels in protein-calorie malnutrition"
Arch. Dis. Childh., 43, 365 (1968)
- [137] REYES, F., BACH, J.F.:
"Rosette forming cells in the unimmunized mouse: morphological studies with phase contrast and electron microscopy"
Cellular Immunology, 2, 182 (1971)
- [138] RITTER, J., OEHME, J.:
"Immunologische Defekte und ihre Therapie"
Medizin, 9, 712 (1975)
- [139] ROITT, I.M., GREAVES, M.F., TORRIGIANI, G., BROSTOFF, J.:
"The cellular basis of immunological responses"
Lancet, 367 (1969)

- [140] ROSS,G.D., RABELLINO,E.M., POLLEY,M.J., GREY,H.M.:
"Combined studies of complement receptor and surface
immunglobulin-bearing cells and sheep erythrocyte
rosette-forming cells in normal and leukemic human
lymphocytes"
J.Clin.Invest.,52,377 (1973)
- [141] SACHS,L.:
"Statistische Methoden"
2.Aufl.1972, Springer-Verlag
- [142] SALGE,B.:
"Salzsäure im Säuglingsmagen"
Z.Kinderheilk.,4,171 (1912) und 5,111 (1913)
- [143] SANDILANDS,G.P., GRAY,K., COONEY,A., BROWNING,J.D.,
GRANT,R.M., ANDERSON,J.R.:
"Lymphocytes with T and B cell properties in a lympho-
proliferative disorder"
Lancet,903 (1974)
- [144] SCHONLAND,M.M., SHANLEY,B.C., LOENING,W.E.K., PARENT,M.A.,
COOVADIA,H.M.:
"Plasma-cortisol and immunosuppression in protein-calorie
malnutrition"
Lancet,435 (1972)
- [145] SCHWENK,H.U., HITZIG,W.H.:
"Immunmangelkrankheiten im Kindesalter"
Die Gelben Hefte, Immunbiologische Informationen Behring,
1,19 (1973)
- [146] SCIBIENSKI,R.J., HARRIS,L.M., PONG,S., BENJAMINI,S.:
"Active and inactive states of immunologic unresponsive-
ness"
J.Immunol.,1,45 (1974)
- [147] SCIBIENSKI,R.J., SERCARZ,E.:
"Suppression and selection of B cells during lysozyme
tolerance in the mouse"
J.Immunol.,110,540 (1973)

- [148] SEEGER, R.S., STIEHM, E.R.:
"T and B lymphocyte subpopulations"
Pediatrics, 55, 157 (1975)
- [149] SEILER, F.R., SEDLACEK, H.H., KANZY, E.J., LANG, W.:
"Über die Brauchbarkeit immunologischer Nachweismethoden zur Differenzierung funktionell verschiedener Lymphozyten: Spontanrosetten, Komplementrezeptor-Rosetten, Immunglobulinrezeptoren"
Behring Institute Mitteilungen, 52, 26 (1972)
- [150] SELLMEYER, E., BHETTAY, E., TRUSWELL, A.S., MEYERS, O.L., HANSEN, J.D.L.:
"Lymphocyte transformation in malnourished children"
Arch. Dis. Childh., 47, 429 (1972)
- [151] SETH, V., CHANDRA, R.K.:
"Opsonic activity, phagocytosis, and bactericidal capacity of polymorphs in undernutrition"
Arch. Dis. Childh., 47, 282 (1972)
- [152] SHALHOUB, R.J.:
"Pathogenesis of lipoid nephrosis: a disorder of T cell function"
Lancet, 556 (1974)
- [153] SIEGEL, I.:
"Mechanisms of rosette formation"
Brit. Med. J., 4, 297 (1972)
- [154] SIRISINHA, S., SUSKIND, R., EDELMAN, R., CHARUPATANA, Ch.:
"Complement and C₃-proactivator levels in children with protein-calorie malnutrition and effect of dietary treatment"
Lancet, 1016 (1973)
- [155] SMITH, M.A., EVANS, J., STEEL, C.M.:
"Age-related variation in proportion of circulating T-cells"
Lancet, 922 (1974)

- [156] SMITH,R.W., TERRY,W.D., BUELL,D.N., SELL,K.W.:
"An antigenic marker of human thymic lymphocytes"
J.Immunol.,110,884 (1973)
- [157] SMYTHE,P.M., SCHONLAND,M., COOVADIA,H.M., BRERETON-
STILES,G.G., GRACE,H.J., LOENING,W.E.K., MAFOYANE,A.,
PARENT,M.A.:
"Thymolymphatic deficiency and depression of cell-
mediated immunity in protein-calorie malnutrition"
Lancet,939 (1971)
- [158] SPIESS,H.:
"Allgemeine Immunologie"
Dt.Ärzteblatt,4,949 (1976)
- [159] STATHOPOULOS,G., ELLIOTT,E.V.:
"Formation of mouse or sheep red blood cell rosettes
by lymphocytes from normal and leukemic individuals"
Lancet,600 (1974)
- [160] STEEL,C.M., EVANS,J., SMITH,M.A.:
"Physiological variation in circulating B-cell:
T-cell ratio in man"
Nature,247,387 (1974)
- [161] STEEL,C.M., EVANS,J., SMITH,M.A.:
"The sheep-cell rosette. Test on human peripheral blood
lymphocytes: an analysis of some variable factors in
the technique"
Brit.J.of Haematology,28,245 (1974)
- [162] STJERNSWÄRD,J., JONDAL,M., VANKY,F., WIGZELL,H., SEALY,R.:
"Lymphopenia and change in distribution of human B and
T lymphocytes in peripheral blood induced by irradiation
for mammary carcinoma"
Lancet,1352 (1972)
- [163] TELLER,W.M.:
"Zur Systematik, Diagnostik und Therapie angeborener
(primärer) Immuninsuffizienzen"
Dtsch.med.Wschr.,96,1139 (1971)

- [164] TILZ, G.P.:
"Neue Erkenntnisse über das lymphozytäre System am Menschen. II. Die Charakterisierung von humanen T- und B-Lymphozyten und deren Bedeutung für die praktische Medizin"
Dtsch.med.Wschr., 99, 518 (1974)
- [165] TREPEL, F.W.:
79. Tagung der Dt. Gesellschaft für Innere Medizin,
29.4.-3.5.1973, Wiesbaden
- [166] TUR, A.F.:
"Hämatologie des Kindesalters"
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin (1955), S.54
- [167] TYMPNER, K.D., NEUHAUS, F.:
"Immunantwort des Neugeborenen"
Die Gelben Hefte, Immunbiologische Informationen Behring,
1, 24 (1973)
- [168] UGAZIO, A.G., MARCIONI, A.F., ASTALDI, A., BURGIO, G.R.:
"Peripheral blood B-lymphocytes in infancy and childhood"
Acta Paed. Scand., 63, 205 (1974)
- [169] VILA, J.M., TAUB, R.N.:
"Normanski optics and T and B markers"
Lancet, 977 (1975)
- [170] VORLÄNDER, K.O.:
"Auto-Immunkrankheiten"
Die Gelben Hefte, Immunbiologische Informationen Behring,
2, 53 (1974)
- [171] WEINER, M.S., BIANCO, C., NUSSENZWEIG, V.:
"Enhanced binding of neuraminidase-treated sheep erythrocytes to human T lymphocytes"
Blood, 6, 939 (1973)
- [172] WILLIAMS, R.C., De BOARD, J.R., MELLBYE, O.J., MESSNER, R.P., LINDSTRÖM, F.D.:
"Studies of T- and B-lymphocytes in patients with connective tissue diseases"
J. Clin. Invest., 52, 283 (1973)

- [173] WILSON, J.D., NOSSAL, G.J.V.:
"Identification of human T and B lymphocytes in normal peripheral blood and in chronic lymphocyte leukemia"
Lancet, 788 (1971)
- [174] WINTER, G.C.B., BYLES, A.B., YOFFEY, J.M.:
"Blood-lymphocytes in newborn and adult"
Lancet, 932 (1965)
- [175] WYBRAN, J., BELOHRADSKY, B.H., FUDENBERG, H.H.:
"Unmasking by antimetabolites of receptors for sheep red blood cells on human lymphocytes"
Cell. Immunol., 14, 359 (1974)
- [176] WYBRAN, J., CARR, M.C., FUDENBERG, H.H.:
"The human rosette-forming cell as a marker of a population of thymus-derived cells"
J. Clin. Invest., 51, 2537 (1972)
- [177] WYBRAN, J., CARR, M.C., FUDENBERG, H.H.:
"Effect of serum on human rosette forming cells in fetuses and adult blood"
Clin. Immunol. Immunopathol., 3, 408 (1973)
- [178] WYBRAN, J., CHANTLER, S., FUDENBERG, H.H.:
"Isolation of normal T cells in chronic lymphatic leukemia"
Lancet, 126 (1973)
- [179] WYBRAN, J., FUDENBERG, H.H.:
"Thymus-derived rosette-forming cells in various human diseases states: cancer, lymphomas, bacterial and viral infections, and other diseases"
J. Clin. Invest., 52, 1026 (1973)
- [180] WYBRAN, J., FUDENBERG, H.H.:
"How clinically usefull is T and B cell quantutation?"
Ann. Intern. Med., 80, 765 (1974)
- [181] WYBRAN, J., LEVIN, A.S., SPITLER, L.E., FUDENBERG, H.H.:
"Rosette-forming cells, immunologic deficiency diseases and transfer factor"
New Engl. J. of Med., 5, 710 (1973)

- [182] XANTHOU,M., VALASSI-ADAM,E., KINTZONIDOU,E.,
MATSANIOTIS,N.:
"Phagocytosis and killing ability of *Candida albicans* by
blood leukocytes of healthy term and preterm babies"
Arch.Dis.Childh.,50,72 (1975)
- [183] YU,D.T.Y., PETER,J.B., PAULUS,H.E., NIES:
"Human lymphocyte subpopulations. Study of T and B cells
and their density distribution"
Clin.Immunol.Immunopathol.,3,333 (1974)
- [184] YU,D.T.Y., CLEMENTS,P.J., PAULUS,H.E., PETER,J.B.,
LEVY,J., BARNETT,E.V.:
"Human lymphocyte subpopulations: effect of cortico-
steroids"
J.Clin.Invest.,53,565 (1974)
- [185] ZAALBERG,O.B.:
"A simple method for detecting single antibody-forming
cells"
Nature,202,1231 (1964)
- [186] ZIEGLER,
XIV.Int.Kongreß für Kinderheilk., Buenos Aires 1974

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. O e h m e
für die Überlassung des Themas und Förderung der Arbeit.

Herrn Dr. J. R i t t e r aus der Kinderklinik der Städti-
schen Krankenanstalten Braunschweig danke ich für seine
Beratung sowie den Medizinisch-technischen Assistentinnen
Frau Braden und Frau Gürtler für die Mithilfe bei der
Durchführung des E-Rosettentests.

L e b e n s l a u f

Am 31.7.1942 wurde ich in Bonn/Rh. geboren.

Von 1949 - 1953 besuchte ich die Marienschule, von 1953 - 1962 das Gymnasium an der Max-Planck-Straße, beide in Delmenhorst i.O.

Nach bestandenem Abitur ging ich 1962 zum Studium der Medizin an die Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn und bestand dort 1964 das Physikum und am 8.7.1968 das medizinische Staatsexamen.

Von 1968 - 1970 absolvierte ich die Medizinal- und einen Teil der Assistentenzeit am St.Josef-Stift in Delmenhorst auf der Inneren, der Chirurgischen und der Geburtshilflich-Gynäkologischen Abteilung und erhielt am 1.1.1970 meine Approbation als Ärztin.

Die ersten drei Jahre meiner Facharztweiterbildung verbrachte ich in der Kinderklinik des Kreiskrankenhauses in Waldbröl (Chefarzt Dr. E h n e r t), seit dem 1.1.1974 bin ich Assistenzärztin in der Kinderklinik der Städtischen Krankenanstalten in Braunschweig (Chefarzt Prof.Dr.O e h m e). Am 23.12.1974 wurde mir die Anerkennung als Fachärztin für Kinderheilkunde erteilt.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten in Bonn :

Bayer, Becker, Dardenne, Decher, Diemer, Dirscherl, Dohrmann, Domenjoz, Egli, von Eiff, Elbel, Fischer, Flatz, Goslar, Gropp, Gütgemann, Haberland, Habs, Haferkamp, Hagen, Hamperl, Hauser, Heymer, Huber, Hungerland, Imdahl, Janker, Korkhaus, Korte, Langendörfer, Leinbrock, Maurer, Pichotka, Piekarski, Rössler, Schaede, Schriefers, Thurn, Tonutti, Vahlensick, Vorlaender, Weicker, Weigelin, Weitbrecht, Wenner, Wessel.

